Vol. XXIX Nr 4 1960

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne





WARSZAWA 1960



TREŚĆ — SOMMAIRE

VOL. XXIX Nr 4

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Vol. XXIX Nr 4



WARSZAWA 1960

RADA REDAKCYJNA — CONSEIL DE RÉDACTION

B. HRYNIEWIECKI (WARSZAWA), ST. KULCZYŃSKI (WROCŁAW), B. NIKLEWSKI (POZNAŃ), FR. X. SKUPIEŃSKI (ŁÓDŹ), W. SZAFER (KRAKÓW), P. WIŚNIEWSKI (LUBLIN), J. ZABŁOCKI (TORUŃ).

KOMITET REDAKCYJNY — COMITÉ DE RÉDACTION

† K. BASSALIK (WARSZAWA), W. GAJEWSKI (WARSZAWA), A. GAJEWSKA (WARSZAWA).

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — DZIAŁ CZASOPISM
Warszawa 1, Miodowa 10

Nakład 916 +144	*Oddano do składu 6.XI.60 r.*
Ark. wyd. 15,5, druk. 13,5+3 wklejki	*Podpisano do druku 29.XI.60 r.*
Papier druk. sat. kl. IV, 70 g. 70×100	*Druk ukończono w grudniu 1960 r.*
Cena zł 35.—	*Zam. 355 C-26*

Warszawska Drukarnia Naukowa, Warszawa, ul. Śniadeckich nr 8

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Wpływ boru na przemieszczenie sacharozy w siewkach fasoli

The influence of boron on the translocation of sucrose in bean seedlings

Z. TURNOWSKA-STARCK

W poprzedniej pracy (Turnowska-Starck 1960) badano wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie sacharozy w odciętych liściach fasoli. Z większości opisanych w niej doświadczeń wynika, że bor wpływa na wielkość absorpcji i przemieszczanie cukrów. Powyższe badania nie wyjaśniły jednak, czy obserwowana zależność wywołana jest bezpośrednim udziałem boru w tych procesach.

W ostatnich latach ukazało się w literaturze kilka prac poświęconych temu zagadnieniu (Gauch, Dugger 1953; Sisler i in. 1956; Dugger i in. 1957). Żadna z nich nie daje jednak jasnej odpowiedzi, w jaki sposób bor wpływa na przemieszczanie cukrów. Skok (1957 a i 1957 b) nie potwierdził wpływu boru na wędrówkę cukrów.

Rozbieżność wyników uzależniona jest między innymi od metodyki badań oraz różnorodności badanych roślin i stopnia ich deficytu borowego.

W cytowanej na wstępie pracy środkowy człon trójdzielnego liścia fasoli zanurzano w roztworze sacharozy lub sacharozy z kwasem bornym, a następnie określano absorpcję i przemieszczanie węglowodanów oraz boru. W wyniku dostarczenia roślinom boru wraz z sacharozą wykazano pewien wzrost intensywności absorpcji i przemieszczania cukrów zarówno u roślin z optymalnej dawki boru, jak i wykazujących nieznaczny deficyt. W niektórych przypadkach nie obserwowano przemieszczania sacharozy, gdy wprowadzano ją bez boru do liści.

Absorpcja boru była dość znaczna. Nie stwierdzono jednak przemieszczania tego mikroelementu ani do liści bocznych, ani do ogonków, co jeszcze raz potwierdza jego małą ruchliwość w tkankach roślin.

Ponieważ poprzednie badania prowadzono na izolowanych liściach, w których przemieszczenie cukrów było bardzo nieznaczne, wyłoniła się

konieczność sprawdzenia uzyskanych wyników na całej roślinie, u której można by obserwować wędrówkę cukrów do organów będących typowymi ich akceptorami. Ponadto chodziło o zbadanie, czy wpływ boru na przemieszczanie sacharozy jest bezpośredni, czy też jest wynikiem oddziaływania na jakiś inny proces fizjologiczny, od którego pośrednio lub bezpośrednio uzależniony jest transport cukrów.

Wielu autorów przypuszcza, że fizjologiczna rola boru polega przede wszystkim na regulowaniu procesu wzrostu (T o r s s e l l 1956; O d h n o f f 1957; S k o k 1957 a, 1957 b; 1958). Istotnie jednym z pierwszych zewnętrznych objawów braku boru jest zahamowanie wzrostu korzeni i wierzchołka pędu. Zahamowanie wzrostu obserwuje się co prawda również przy niedoborze innych składników pokarmowych, ale nigdy reakcja nie następuje tak szybko i wyraźnie.

W niniejszej pracy doświadczenia prowadzono na roślinach w różnym stopniu zaopatrzonych w bor. Starano się jednocześnie prześledzić proces wzrostu i oddychania, by lepiej scharakteryzować badane rośliny.

METODYKA BADAŃ

I. Przygotowanie materiału roślinnego i pomiary wzrostu

Doświadczenia prowadzono (podobnie jak w poprzednich badaniach) na fasoli odmiany „Saxa". Rośliny hodowano w kulturach wodnych, w słojach ze szkła bezborowego. Skład pożywki podano w poprzedniej pracy.

Nasiona wysiano 15.V.1959; siewki możliwie jednakowej wielkości przesadzono 27.V. na pięć różnych pożywek zawierających niejednakową ilość boru, po 4 rośliny na wazon:

0,0 mg B; 0,1 mg B; 0,25 mg B; 0,5 mg B; 2,0 mg B/wazon — jako H_3BO_3

Poza szczegółowymi obserwacjami wyglądu roślin dokonywano codziennych pomiarów wzrostu w godzinach rannych. Przy pomocy podziałki milimetrowej mierzono długość i szerokość obu liści pierwszej pary, długość epikotylu i hipokotylu oraz nowo powstających trójdzielnych liści. Pomiary przeprowadzano codziennie na tych samych 12 roślinach z każdej serii.

II. Biosynteza radioaktywnej sacharozy

Biosyntezę radioaktywnej sacharozy przeprowadzano na liściach kanny (charakteryzujących się dużą zawartością sacharozy) częściowo w oparciu o prace P u t t m a n a i in. (1948, 1952). Biosyntezę przeprowadzano

na świetle dziennym w kamerze zawierającej ok. 3% CO_2 znakowanego węglem radioaktywnym (w ilości 1,5 mC).

Sacharozę oddzielano od innych cukrów metodą chromatografii bibułkowej. W celu uzyskania czystych preparatów, poddawano ją rechromatografii. Po wyeluowaniu sacharozy przygotowywano roztwór znakowanej sacharozy w ten sposób, by w 100 µl znajdowało się jej 5 mg o ogólnej radioaktywności 9 µC (czyli 1 milion impulsów na min., bez uwzględnienia wydajności licznika).

III. Sposób wprowadzenia radioaktywnej sacharozy do rośliny

Roślinom usuwano pierwszą parę liści i przetrzymywano je w ciemności w ciągu 33—34 godz. Po tym okresie poszczególne rośliny umieszczano pojedynczo w słoikach ze szkła bezborowego na świeżo przygotowanej pożywce, lecz pozbawionej boru. Zgodnie bowiem z doświadczeniem P r i s t u p y i K u r s a n o w a (1957) oraz A n i s i m o w a (1959) w przypadku absorpcji soli mineralnych wzmaga się przemieszczanie węglowodanów do korzeni.

Roztwór radioaktywnej sacharozy nakroplono na górną powierzchnię listka głównego (środkowego) pierwszego trójdzielnego wykształconego liścia fasoli.

We wstępnych doświadczeniach z radioaktywną glukozą stwierdzono, że u fasoli radioaktywność poszczególnych organów jest niemal jednakowa bez względu na miejsce naniesienia roztworu (górna czy dolna powierzchnia liścia).

We wszystkich przypadkach nanoszono po 100 µl roztworu sacharozy w ok. 300 punktach, możliwie równomiernie rozmieszczonych na całej powierzchni. Powierzchnia zetknięcia roztworu z liściem wynosiła ok. 2 cm^2, co stanowi 5—10% powierzchni blaszki liścia .

Aby zapobiec spływaniu kropel, liściom nadano pozycję poziomą.

Po naniesieniu roztworu fasolę umieszczono w kamerze z pleksiglasu, w której ustawiono naczynia z NaOH (w celu obniżenia intensywności fotosyntezy).

IV. Utrwalenie materiału roślinnego i oznaczanie radioaktywności

Po 5 lub 10 godz. ekspozycji rośliny dzielono na 7 części:

1) listek główny (środkowy), na który nanoszono radioaktywny roztwór,

2) listki boczne tego samego liścia,

3) drugi trójdzielny liść (blaszka i ogonek),

4) wierzchołek pędu z najmłodszą częścią łodygi,

5) ogonek całego liścia traktowanego,

6) łodyga,
7) korzeń.

Nie oznaczano radioaktywności listka traktowanego sacharozą.

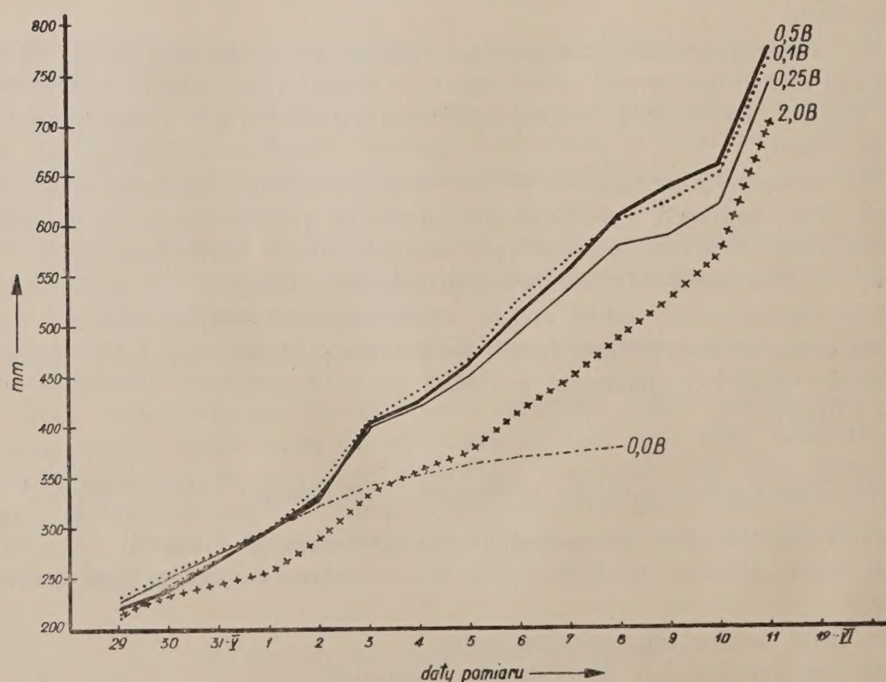
Każdą część zabijano w suchym lodzie i ważono przed oznaczeniem radioaktywności. Próbki rozcierano w homogenizatorach; radioaktywność ogólną oznaczano w 0,2 ml homogennej zawiesiny, osuszonej pod infra-czerwoną lampą, zawierającej 1—2 mg s.m., przy pomocy licznika w okienku mikowym grubości 1,1 mg/cm², średnicy 25 mm. Wydajność licznika wynosiła ok. 5% (przy stosowanym kącie bryłowym).

We wszystkich tabelach przytoczono pomiary radioaktywności bez uwzględnienia wydajności licznika.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

I. Przebieg wzrostu i oddychania

Pierwsze objawy braku boru zaobserwowano w serii 0,0 mg B, po 6 dniach od chwili wysadzenia roślin na pożywkę. Wyrażały się one zamieraniem końców korzeni i sztywnieniem pierwszej pary liści. Po 7—8



Ryc. 1. Wpływ stopnia zaopatrzenia roślin w bor na przebieg wzrostu fasoli
Influence of different boron supply to plants on the growth of beans

dniach stwierdzono ponadto zamieranie wierzchołków pędu. Rośliny wykształciły tylko pierwszą parę liści, natomiast zawiązki liści trójdzielnych pozasychały. Dlatego też nie brano tej serii roślin do doświadczeń z przemieszczeniem radioaktywnej sacharozy.

U roślin, które otrzymały w pożywce bor (niezależnie od jego dawki), nie obserwowano w tym czasie żadnych różnic ani we wzroście, ani w wyglądzie roślin. Potwierdzają to wyniki codziennych pomiarów poszczególnych części fasoli (ryc. 1). Rzędne obrazują tu sumę wszystkich pomiarów 12 roślin danej serii w mm. W ten sposób wykreślone krzywe pozwalają porównywać szybkość wzrostu (niestety tylko części nadziemnej) zależnie od dawki boru w pożywce.

Zaobserwowano wyraźne zahamowanie wzrostu części nadziemnej roślin serii bezborowej już po 8 dniach od momentu wysadzenia ich na pożywkę. Obserwowano nieco osłabiony wzrost roślin (szczególnie w pierwszych dniach po wysadzeniu) w serii 2,0 mg B/wazon.

Tabela 1

Oddychanie fasoli z pożywek o różnym poziomie boru
Intensywność oddychania (wyrażona w $\mu l O_2$) roślin
z pożywki 0,1 mg B/wazon przyjęto za 100%

	Ilość mg B na wazon			
	0,1	0,25	0,5	2,0
Intensywność oddychania (w %)	100	100,4	99,5	102,9

Poza pomiarami wzrostu oznaczano oddychanie liści roślin różnie zaopatrzonych w bor. Pomiar oddychania prowadzono na krążkach z pierwszego trójdzielnego liścia w aparacie Warburga w temp. 28°C, w dniu, w którym badano przemieszczanie radioaktywnych związków (tj. 11.VI.1959). Przed oznaczeniem oddychania, rośliny przebywały 36 godz. w ciemności.

Wyniki tych pomiarów wskazują na brak różnic w intensywności oddychania poszczególnych serii liści (tabela 1).

II. Przemieszczanie radioaktywnego węgla w zależności od stopnia zaopatrzenia roślin w bor

Doświadczenie I. 11.VI.1959. Badano przemieszczanie radioaktywnego węgla, wprowadzonego w postaci sacharozy, po 5 i 10 godz. ekspozycji na roślinach różnie zaopatrzonych w bor. Doświadczenie prze-

prowadzono w szklarni w godz. rannych (godz. 5.00). W czasie doświadczenia temperatura wzrosła od 13 do 19°C.

Aby scharakteryzować pierwszy trójdzielny liść oznaczono suchą masę przed i po okresie ciemności oraz zawartość cukrów rozpuszczalnych (suma monosacharydów + sacharoza) po głodzeniu roślin w ciemności (tabela 2). Niestety materiał przeznaczony do analiz uległ zniszczeniu i dlatego oznaczano cukry w liściach zabitych w suchym lodzie, a następnie suszonych w 105°C. Stąd należy się liczyć z możliwością pewnego błędu oznaczeń cukrów.

Tabela 2

Zawartość cukrów rozpuszczalnych i suchej masy w fasoli przed i po okresie ciemności (średnie z 3 roślin)
Doświadczenie I/59

mg B na wazon	Przed okresem ciemności (sucha masa)						Po 36 godz. ciemności liście trójdzielne			
	Liść trójdz.		Część wierzchołkowa		Korzenie		S. masa		Cukry rozp. w mg	
	w mg	w % św. m.	w mg	w % św. m.	w mg	w % św. m.	w mg	w % św. m.	na 1g św. m.	na 1g s. m.
0,1	224	13,5	66	12,9	206	6,0	156	10,2	5,25	50,09
0,25	216	13,3	47	11,2	177	6,1	170	9,3	3,99	43,58
0,50	194	11,8	50	11,4	194	6,0	170	9,9	3,66	36,90
2,0	222	12,4	70	14,0	180	6,2	174	11,7	5,72	48,50
										Przed. ufn. = 9,3

Jak widać z przytoczonych liczb, zawartości suchej masy (w wartościach bezwzględnych i względnych) nie różniły się w poszczególnych seriach roślin. Podobnie poziom węglowodanów był niemal jednakowy, odbiega tylko seria 0,5 mg B. Liczby przeliczone na 1 g świeżej masy obarczone są większym błędem, gdyż niektóre liście (szczególnie serii 2,0 mg) były zwiędnięte.

Wyniki pomiarów radioaktywności zebrano w tabeli 3. Rozbieżności pomiędzy powtórzeniami w ramach serii były bardzo duże.

Radioaktywność całych roślin po 5 godz. ekspozycji w serii z najniższą dawką boru (0,1 mg B) była mniejsza niż roślin obficiej w niego zaopatrzonych. Różnice te są nieco mniejsze w przeliczeniu na 1 g świeżej masy roślin (ryc. 2).

Największe różnice zaobserwowano po 5 godz. w radioaktywności łodygi, co widać wyraźnie zarówno z liczb bezwzględnych, jak i przeliczonych na jednostkę masy.

Tabela 3

Wpływ zasobności roślin w bor na rozmieszczenie radioaktywnego węgla
(w tys. imp./min i w %)
Doświadczenie I/59

Część rośliny	Radio-aktywność	5 godz. ekspozycji					10 godz. ekspozycji				
		0,1	0,25	0,5	2,0	Przedz. ufn.* P = 0,05	0,1	0,25	0,5	2,0	Przedz. ufn. P = 0,05
		mg B na wazon					mg B na wazon				
Liście boczne	w tys. imp.	0,0	0,75**	0,29	0,0	$F_t > F_e$	0,0	0,17	0,08	0,21	$F_t > F_e$
	w %	0,0	2,8	1,5	0,0		0,0	0,2	0,2	0,4	
Liść mały	w tys. imp.	1,30	0,71	0,87	1,83	$F_t > F_e$	13,58	10,12	7,92	9,37	$F_t > F_e$
	w %	10,9	2,5	4,0	9,0		22,9	13,5	15,6	22,2	
Wierzchołek	w tys. imp.	0,27	0,19	0,36	0,32	$F_t > F_e$	3,90	1,58	2,18	2,11	$F_t > F_e$
	w %	1,8	0,7	1,7	1,5		6,2	2,2	4,4	4,5	
Ogonek	w tys. imp.	4,12	5,73	6,67	4,21	2,01	9,00	12,96	8,25	6,58	4,67
	w %	37,3	27,1	32,3	20,2		14,6	18,0	15,6	15,5	
Łodyga	w tys. imp.	5,21	13,96	11,25	13,54	7,01	21,58	30,79	20,08	17,50	$F_t > F_e$
	w %	45,7	57,9	56,5	63,1		33,8	41,9	38,4	38,5	
Korzeń	w tys. imp.	0,58	2,37	0,79	1,42	$F_t > F_e$	12,62	18,17	14,13	9,12	$F_t > F_e$
	w %	4,3	9,0	4,0	6,2		22,5	24,2	25,8	18,9	
Razem	w tys. imp.	11,48	23,70	20,22	21,32	10,35	60,69	73,78	52,64	44,89	$F_t > F_e$

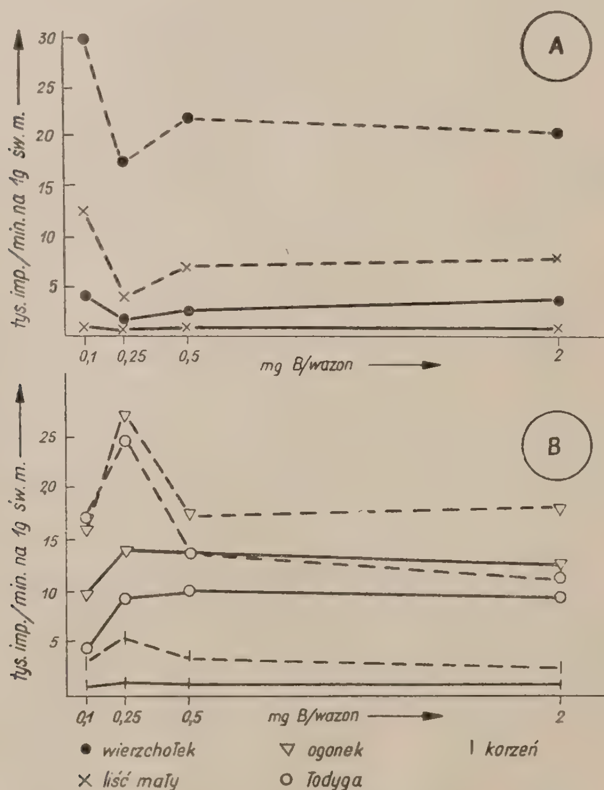
* Obliczeń statystycznych dokonano na podstawie analizy zmienności z zastosowaniem testu Snedecora.

** Radioaktywność poniżej 1 tys. imp./min. odpowiada kilku impulsom na min. oznaczonym w obj. 0,2 ml (na miseczce).

Około połowy C^{14} wykrytego w całej roślinie znajdowało się w łodygach, a 20—30% — w ogonkach (tabela 3).

Łączna radioaktywność łodygi i ogonka wynosiła ponad 80% niezależnie od stopnia zaopatrzenia roślin w bor.

Inny obraz uzyskano po 10 godz. ekspozycji. W tym przypadku różnice pomiędzy seriami zatarły się. Najbardziej odbiega seria 0,25 mg B, przy czym tu nieco inaczej reagują organy powyżej i poniżej liścia traktowanego.



Ryc. 2. Wpływ stopnia zaopatrzenia roślin w bor na rozmieszczenie radioaktywnego węgla w siewkach fasoli. Dośw. I/59. Pomiary w tys. imp./min./1g św. m.

Linia ciągła po 5 godz. ekspozycji; linia przerywana po 10 godz. ekspozycji; *A* — organy nad liściem traktowanym; *B* — organy pod liściem traktowanym

Influence of boron supply on the distribution of radioactive carbon in bean seedlings. Experiment I/59. Measured in thousands of counts per minute per 1 g. of fresh matter

Continuous line — after 5 hours of exposition; Dashed line — after 10 hours of exposition; *A* — organs above treated leaf; *B* — organs below treated leaf

Procentowy udział łodygi we wszystkich seriach jest mniejszy niż przy krótszej ekspozycji i wynosi 35—40%. W łodydze wraz z ogonkiem stwierdzono prawie połowę C^{14} zawartego w całej roślinie (oczywiście oprócz liścia traktowanego sacharozą).

Radioaktywność korzeni, listka małego, a częściowo i wierzchołka pędu znacznie wzrosła w porównaniu z radioaktywnością stwierdzoną po 5 godz. ekspozycji.

Tabela 4

Wpływ stopnia zaopatrzenia roślin w bor na rozmieszczenie radioaktywności w poszczególnych organach

Doświadczenie I/59

Część rośliny	Radio-aktywność	0,1 mg B/wazon			Średnia z 0,25; 0,5; 2,0 mg B/wazon		
		po 5 godz.	po 10 godz.	różnica	po 5 godz.	po 10 godz.	różnica
Wierzchołek	w tys. imp.	0,27	3,30	3,63	0,29	1,96	1,67
	w %	2,3	6,8		1,4	3,57	
Liść mały	w tys. imp.	1,30	13,58	12,28	1,14	9,14	8,00
	w %	11,2	21,8		5,3	16,3	
Ogonek	w tys. imp.	4,12	9,00	4,88	5,54	9,26	3,72
	w %	35,9	14,8		25,7	15,8	
Łodyga	w tys. imp.	5,21	21,58	16,37	12,92	22,79	9,87
	w %	45,6	35,8		59,5	39,0	
Korzeń	w tys. imp.	0,58	12,62	12,04	1,53	13,80	12,27
	w %	5,0	20,8		6,8	23,7	
Cała roślina	w tys. imp.	11,48	60,69	49,21	21,75	57,10	35,35
	w %	100,0	100,0		100,0	100,0	

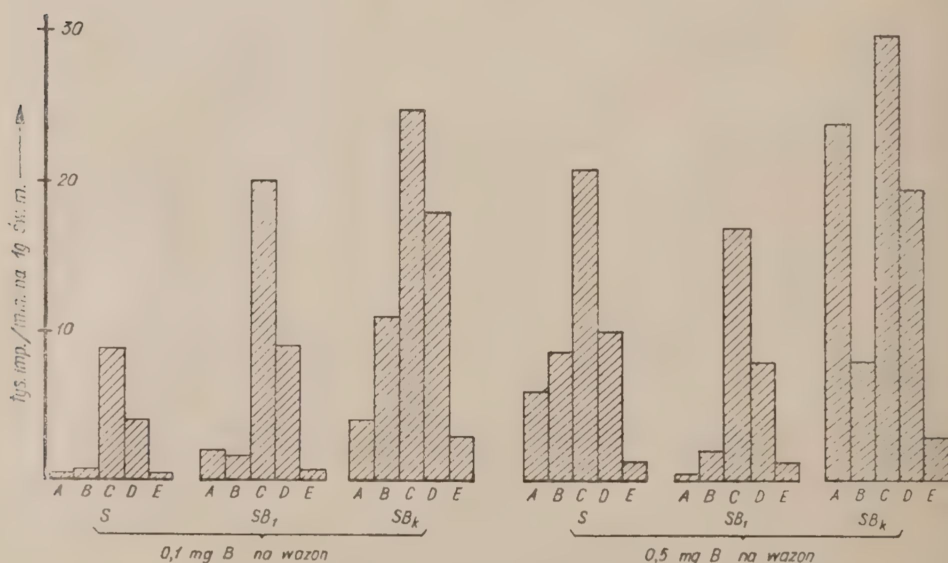
W tabeli 4 porównano wyniki radioaktywności serii 0,1 mg B ze średnią z trzech pozostałych serii. Z takiego zestawienia wynika, że radioaktywność całych roślin po 10 godz. była znacznie większa (prawie wszystkie ponad dwukrotnie), w porównaniu z radioaktywnością po 5 godz. Po krótszym okresie ekspozycji w organach odległych od liścia traktowanego wykryto zaledwie ślady C^{14} i dopiero w ciągu następnych 5 godz. przemieściły się do nich większe ilości radioaktywnych związków.

Nie stwierdzono natomiast takich zależności w ogonku, w którym radioaktywność w ciągu całego doświadczenia wzrastała prawie równomiernie.

III. Wpływ boru na przemieszczanie radioaktywnego węgla

Doświadczenie II. 13.VI.1959. Doświadczenie przeprowadzono na roślinach serii 0,1 mg B i 0,5 mg B. Przed naniesieniem radioaktywnej sacharozy pobrano po 3 próbki z każdej serii do oznaczeń cukrów rozpuszczalnych; oznaczano je w trójdzielnych liściach, analogicznych do tych, które traktowano radioaktywną sacharozą i zabitych w suchym lodzie. Zawartość cukrów rozpuszczalnych w serii 0,1 mg B wynosiła 8,30 mg na 1 g św. masy, a w serii 0,5 mg B — 9,0/mg. Różnica ta leży w granicach błędu.

Część roślin obu serii na 2 godz. przed wprowadzeniem radioaktywnej sacharozy przeniesiono na pożywkę z borem, po 20 ml świeżo przygotowanej pełnej pożywki na jedną roślinę, z dodatkiem H_3BO_3 w ilości 2 mg



Ryc. 3. Wpływ boru na rozmieszczenie ^{14}C w roślinach różnie zaopatrzonych w ten mikroelement. Dośw. II/59. Pomiary w tys. imp./min. 1g św. m.

Influence of boron on the distribution of ^{14}C in plants with different boron supply. Experiment II/59. Measured in thousands of counts per minute per 1 g. of fresh matter

B/1. W ten sposób każda roślina otrzymała w pożywce po 40 μg B. Część pozostałych roślin otrzymała radioaktywną sacharozę w sposób opisany powyżej, a pozostałe — roztwór sacharozy C^{14} z dodatkiem 30μg B na roślinę jako H_3BO_3.

Roślinom, które bor otrzymały w pożywce, naniesiono na liść roztwór radioaktywnej sacharozy.

Doświadczenie składało się zatem z trzech kombinacji:

1) C^{14} — sacharoza — S,
2) C^{14} — sacharoza + B (na liście) — SB_l,
3) C^{14} — sacharoza + B (przez korzenie) — SB_k.

W czasie ekspozycji rośliny kombinacji S i SB_l znajdowały się na pożywce bezborowej. Doświadczenie rozpoczęto wczesnym rankiem (godz. 4), a czas ekspozycji wynosił 5 godz. Temperatura stopniowo wzrastała z 15 do 26°C.

Pomiary radioaktywności ilustruje tabela 5 i ryc. 3. Radioaktywność roślin serii 0,1 mg B była bardzo mała. W całej roślinie stwierdzono zaledwie 9,5 tys. imp. (jest to średnia z 3 roślin, z których w jednej prawie wcale nie wykryto C^{14}).

W wyniku wprowadzenia boru przez liście wraz z sacharozą wzrastała znacznie radioaktywność poszczególnych organów roślin serii 0,1 mg B. Zaznacza się to szczególnie wyraźnie w ogonku i łodydze oraz w znacznie mniejszym stopniu w organach położonych ponad liściem traktowanym oraz w korzeniach.

Wprowadzenie boru przez korzenie w jeszcze większym stopniu wpłynęło na wzrost aktywności poszczególnych części rośliny. W tej kombinacji obserwowano dużą radioaktywność łodygi, korzeni oraz organów położonych powyżej liścia traktowanego C^{14} - sacharozą, czyli różnice pomiędzy kombinacjami S i SB_k zaznaczyły się we wszystkich częściach (oprócz liści bocznych, które we wszystkich doświadczeniach nie były radioaktywne).

W serii roślin 0,5 mg B różnice między kombinacjami były znacznie mniejsze. W kombinacji SB_l wykazano mniejszą radioaktywność wierzchołka i małego listka. Pozostałe różnice leżą w granicach błędu. Kombinacja SB_k wyróżnia się tu też największą radioaktywnością, jednak różnice leżą w granicach błędu.

W tabeli 5 przedstawiono też procentowy udział radioaktywności poszczególnych organów we wszystkich kombinacjach i w obu seriach.

W serii roślin ubogich w bor radioaktywność łodygi i korzeni (łącznie) wynosi w kombinacji S i SB_l około 80% (podobnie jak w doświadczeniu poprzednim po 5 godz.), natomiast w przypadku wprowadzenia B przez korzenie procent ten obniża się do 65%. W serii roślin 0,5 mg B we wszystkich kombinacjach radioaktywność łodygi i ogonka wynosi 60—73%.

U roślin serii 0,1 mg B procentowy udział radioaktywności ogonków w kombinacji S i SB_l jest na ogół duży (ponad 30%), natomiast obniża się bardzo znacznie w przypadku wprowadzenia boru przez korzenie.

Tabela 5

Wpływ boru na rozmieszczenie C^{14} w roślinach różnie zaopatrzonych w bor w tys. imp./min i w %

Doświadczenie II

Część rośliny	Radioaktywność	0,1 mg B/wazon				0,5 mg B/wazon			
		S	SB_l	SB_k	Przedz. ufn. P = 0,05	S	SB_l	SB_k	Przedz. ufn. P = 0,05
Liście boczne	w tys. imp.	0,0	0,0	0,0		0,17	0,21	0,46	
	w %	0,0	0,0	0,0		0,4	2,6	1,0	
Liście małe	w tys. imp.	0,28	0,92	2,58		4,29	0,46	4,51	4,20
	w %	3,2*	5,4	4,5		12,7	0,0	9,0	
Wierzchołek	w tys. imp.	0,33*	0,67	4,37	2,74	4,38	0,92	6,20	2,32
	w %	3,6*	2,1	9,3		14,4	7,8	4,0	
Ogonek	w tys. imp.	3,42	10,33	10,12	6,78	8,79	6,87	11,21	5,20
	w %	34,3*	35,3	20,7		24,5	44,6	22,5	
Łodyga	w tys. imp.	3,92	12,92	21,46	9,02	12,83	9,96	25,21	9,02
	w %	41,8*	49,1	44,4		35,7	28,4	46,5	
Korzeń	w tys. imp.	1,54	2,42	9,42	4,70	5,12	4,54	8,54	$F_t > F_e$
	w %	17,1*	8,1	21,1		12,4	16,6	17,0	
Cała roślina	w tys. imp.	9,50	27,26	47,96	8,31	35,58	22,95	49,49	21,49
	w %		100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

* Średnie obliczono tylko z 2 roślin, gdyż trzecia wykazywała znacznie mniejszą radioaktywność.

W tym przypadku wynosi on 21%, czyli jest zbliżony do procentowego udziału radioaktywności ogonków roślin z pożywki 0,5 mg B. Procentowy udział korzeni nie był wszędzie jednakowy i nie wykazywał regularnych zmian.

W kombinacji SB_l i SB_k w serii roślin 0,5 mg B radioaktywność wierzchołków i małych liści jest mniejsza w porównaniu z kombinacją *S*. Nieco inne wyniki uzyskano w serii 0,1 mg B. Tu bowiem w kombinacji SB_k wierzchołek jest bardziej radioaktywny niż w serii SB_l.

Aby stwierdzić, w jakim stopniu na rozmieszczenie związków wpływa masa poszczególnych organów, obliczono ich procentowy udział w masie całych roślin, którą przyjęto za 100%. Dane te ilustruje tabela 6.

Tabela 6

Procentowy udział masy poszczególnych organów
(masę całej rośliny przyjęto za 100%)
(średnie z 9 powtórzeń)
Doświadczenie II/59

Część rośliny	Seria 0,1 mg B na wazon	Seria 0,5 mg B na wazon
Liście boczne	12,9	12,2
Liście małe	9,5	8,4
Wierzchołek	5,6	6,0
Ogonek	6,1	6,3
Łodyga	19,3	19,0
Korzeń	46,6	48,1
	100,0	100,0

Korzenie prawie we wszystkich przypadkach stanowiły ok. 50% masy całych roślin (niezależnie od serii), natomiast ich radioaktywność nigdzie nie przekroczyła 32%, a przeciętnie wynosiła 20%. Łodyga stanowiła natomiast 20% masy rośliny, a ogonki nieco powyżej 6%, czyli oba te organy razem reprezentują 26% masy, natomiast ich radioaktywność niejednokrotnie przekracza 80% ogólnej radioaktywności całej rośliny poza liściem traktowanym. A zatem rozmieszczenie radioaktywności nie jest proporcjonalne do masy poszczególnych organów.

Charakterystyczną jest rzeczą, że stosunki mas poszczególnych organów są jednakowe w obu seriach, co potwierdza raz jeszcze, że rośliny z pożywki o małej zawartości boru nie zareagowały zahamowaniem wzrostu któregoś z organów.

Rozmieszczenie radioaktywnego węgla w przeliczeniu na 1 g św. masy przedstawiono na ryc. 3; jak widać charakter wpływu boru w obu seriach roślin w poszczególnych kombinacjach jest taki sam, jak to wynika z liczb przedstawionych w tabeli 5.

DYSKUSJA

W niniejszej pracy w dwojaki sposób badano wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie sacharozy, a mianowicie porównywano intensywność przemieszczania C^{14} u roślin różnie zaopatrzonych w bor oraz w przypadku dostarczenia roślinom boru w czasie ekspozycji.

W obu przypadkach wykazano pewną zależność pomiędzy fizjologiczną funkcją boru i przemieszczaniem sacharozy. Rośliny lepiej zaopatrzone w bor wykazywały większą radioaktywność poszczególnych organów, do których odbywało się przemieszczenie cukrów, co zaznacza się szczególnie wyraźnie w doświadczeniu II.

Aby określić nieco bliżej, na czym polega ta zależność, należy rozpatrzyć szereg czynników, które mogłyby w dużym stopniu wpłynąć na uzyskane wyniki.

Celem pracy było, jak już wspomniano, zbadanie wpływu boru na przemieszczenie sacharozy. Prawdopodobnie jednak wprowadzona do rośliny sacharoza uległa w czasie ekspozycji w pewnym stopniu przekształceniu na inne związki, np. na cukry proste, aminokwasy, kwasy organiczne. Z doświadczeń T u r k i n y (1959) prowadzonych na wiązkach sitowo-naczyniowych buraka cukrowego wynika, że w ciągu 2—3 godz. ok. 15% C^{14} wprowadzonego w postaci sacharozy przekształciło się na związki nie węglowodanowe. Część C^{14} sacharozy natomiast została zużyta jako substrat oddechowy (C r a i g i e i in. 1958).

W naszych doświadczeniach należy się też liczyć z faktem, że część wprowadzonego C^{14} znajdowała się po 5—10 godz. ekspozycji w wielu związkach organicznych. Przypuszczać należy jednak, że większość radioaktywnego węgla występowała w sacharozie.

Przy interpretacji wyników doświadczeń, w których stosuje się radioaktywne pierwiastki, należy zwrócić szczególną uwagę, czy rozcieńczenie izotopowe w poszczególnych kombinacjach i seriach, a tym bardziej w powtórzeniach było porównywalne. Odnosi się to szczególnie do organów, na które nanoszono C^{14}. Rozcieńczenie izotopowe zależy od zawartości cukrów w komórkach oraz od ilości znakowanej sacharozy, która przedostała się do wnętrza tkanek.

W opisanych doświadczeniach zawartość cukrów rozpuszczalnych w poszczególnych seriach (w ramach danego doświadczenia) była bardzo zbliżona, nie kontrolowano jednak wielkości absorpcji sacharozy. Dlatego też nie można być pewnym, czy rozcieńczenie izotopowe wszędzie było jednakowe.

Duża zmienność radioaktywności ogólnej w ramach tej samej serii i kombinacji oraz znacznie większa zgodność liczb, wyrażających procentowe rozmieszczenie C^{14} w poszczególnych organach, nasuwa przypusz-

czenie, że najbardziej zmiennym parametrem w poszczególnych powtórzeniach była absorpcja. Może to być wynikiem nierównomiernego zasychania naniesionego roztworu z powierzchni liści, pomimo że wszystkie rośliny znajdowały się w podobnych warunkach. Dlatego też wnioski dotyczące absorpcji sacharozy należy wysuwać tu z dużą ostrożnością.

Radioaktywność ogólna poszczególnych organów zależy zarówno od absorpcji, jak i intensywności przemieszczenia. Rozpatrując natomiast procentowy udział radioaktywności w różnych częściach rośliny można już wnioskować o charakterze samego przemieszczenia.

Wielu badaczy przypuszcza, że zakłócenie w procesie przemieszczania u roślin wykazujących deficyt boru jest wynikiem patologicznych zmian w różnych tkankach, a szczególnie we floemie. Takie zmiany obserwowano u wielu roślin (Baker, Gauch, Dugger 1956, Reed 1947, Palser, McIlrath 1956).

W naszych doświadczeniach nie obserwowano żadnych zewnętrznych objawów deficytu boru, ani też nekrozy tkanek przewodzących, nawet u roślin z pożywki 0,1 mg B/wazon. Dlatego nie można tłumaczyć zahamowania przemieszczania sacharozy w serii 0,1 mg B/wazon uszkodzeniem tkanek floemu. W takich samych bowiem roślinach, u których obserwowano nieznaczne przemieszczenie C^{14} wprowadzonego w postaci sacharozy, stwierdzono kilkakrotnie większą radioaktywność, gdy rośliny w czasie ekspozycji otrzymały również bor (dośw. II). Gdyby nawet tkanki przewodzące tych roślin były nieco uszkodzone, w tak krótkim czasie nie mogłaby nastąpić ich regeneracja. Stąd należy przypuszczać, że przyczyn zahamowania wędrówki cukrów u roślin ubogich w bor należy szukać nie w zmianach anatomicznych, lecz fizjologicznym stanie roślin. W związku z tym starano się możliwie dokładnie scharakteryzować badane rośliny pod względem fizjologicznym. Niezależnie od dawki boru w pożywce, siewki fasoli nie różniły się intensywnością oddychania, tempem wzrostu, zawartością cukrów rozpuszczalnych ani też procentową zawartością suchej masy.

Wydaje się więc, że większa radioaktywność roślin w serii z wyższym poziomem boru lub też w przypadku dostarczenia boru w czasie ekspozycji, nie jest związana ani z procesem wzrostu, ani też z oddychaniem. Nie świadczy to jednak jednoznacznie, że bor wpływał bezpośrednio na proces przemieszczania. Mógł on np. wpływać na szybkość przemian radioaktywnej sacharozy na inne związki, które mogą przemieszczać się z różną szybkością (Nelson, Gorham 1959. Overbeek 1956, Day 1952). Na tego rodzaju oddziaływanie boru nie mamy żadnych dowodów. Takiej możliwości nie można jednak wykluczyć w świetle przytoczonych badań. Fakty stwierdzone natomiast w poprzedniej pracy (Turnowska-Starck 1960), w której badano wpływ boru na przemieszczanie sacharozy nieizotopowej (na podstawie wzrostu ilości węglowodanów) wska-

zują, że mikroelement ten wpływa na absorpcję i przemieszczanie samych cukrów. Może on jednak ułatwiać albo wnikanie sacharozy do komórek, jak to przypuszcza Nelson i Gorham (1957), albo przyspieszać jej wędrówkę w tkance miękiszowej lub też w samych sitach w jakiś inny sposób. Co prawda Turnowska-Starck (1959) nie wykazała wyraźnego wpływu boru na absorpcję sacharozy przez epidermę cebuli, jednak wyników badań, uzyskanych na roślinach jednoliściennych i na izolowanej tkance, nie można porównywać z absorpcją cukrów przez liście fasoli.

By częściowo oddzielić możliwość wpływu boru bezpośrednio na absorpcję, w drugim doświadczeniu niniejszej pracy, w jednej z kombinacji wprowadzono bor przez korzenie, a sacharozę przez liście. W tym bowiem przypadku działanie boru na wnikanie sacharozy powinno być raczej mniejsze.

Rozgraniczenie wpływu boru na proces absorpcji i przemieszczania jest na podstawie uzyskanych wyników bardzo trudne. Pewne światło na przebieg obu procesów rzuca jednak analiza rozmieszczenia radioaktywności w poszczególnych organach.

Procentowy udział radioaktywności łodygi i ogonków maleje po dłuższym czasie ekspozycji, co jest prostą konsekwencją wzrostu radioaktywności tych organów będących akceptorami węglowodanów (radioaktywność całej rośliny przyjęto za 100%). Podobną prawidłowość, choć wyrażoną w mniejszym stopniu, zaobserwowano w przypadku wprowadzenia boru przez korzenie (tabela 7). I tu spadek procentowego udziału radioaktywności łodygi i ogonka jest dowodem większego (lub szybszego) odpływu znakowanych cukrów do innych części roślin, będących akceptorami węglowodanów.

Tabela 7

Procentowy udział radioaktywności ogonków i łodygi w serii roślin 0,1 mg B

% udział radioaktywn.	Doświadczenie I		Doświadczenie II		
	po 5 godz.	po 10 godz.	S	SB_l	SB_k
Ogonki	35,9	14,8	34,3	35,3	20,7
Łodygi	45,6	35,8	41,8	49,1	44,4
Razem	81,5	50,6	76,1	84,4	65,1

Takiej prawidłowości nie stwierdzono natomiast w kombinacji SB_l (bor wprowadzony wraz z sacharozą przez liść), choć i w tym przypadku ogólna radioaktywność roślin jest prawie trzykrotnie większa w porównaniu z kombinacją kontrolną (czyli samą sacharozą) (Tabela 5). Wzrost ten dotyczy tu jednak głównie ogonków i łodygi; wskazuje to być może na wpływ boru na absorpcję w przypadku wprowadzenia go na liść wraz

z sacharozą. Bor wprowadzony przez korzenie zwiększał natomiast intensywność przemieszczania — a być może i absorpcję — lecz na to nie mamy dowodów. W tym bowiem przypadku przemieścił się on do części nadziemnej wraz z prądem transpiracyjnym, a dostarczony na liść — w dużym stopniu tam pozostał i dlatego działał lokalnie.

Charakterystyczną jest rzeczą, że stopień zahamowania wędrówki cukrów u roślin serii 0,1 mg B w obu doświadczeniach nie był jednakowy. W pierwszym przypadku stosunek radioaktywności całych roślin (prócz liścia traktowanego) serii 0,5 mg B do radioaktywności roślin serii 0,1 mg B wynosił po 5 godz. ekspozycji $\frac{20,22}{11,48} = 1,8$. Po 10 godz. ekspozycji w doświadczeniu I radioaktywność serii 0,1 mg B nie była mniejsza od pozostałych roślin. Po 2 dniach stosunek ten (po 5 godz. ekspozycji) wynosił $\frac{35,59}{9,5} = 3,7$. Na podstawie tego porównania można przypuszczać, że w ciągu 2 dni dzielących oba doświadczenia, stan fizjologiczny roślin uległ zmianie. Być może zmiana ta polega na wyczerpaniu się jakiejś formy boru, stanowiącej dostępny jego zapas do różnych procesów fizjologicznych (Skok i in. 1958).

W doświadczeniu I radioaktywność roślin wszystkich serii jest znacznie większa po 10 godz. niż po 5 godz., choć wzrost ten nie jest jednakowy we wszystkich organach. Dodatek boru przez korzenie (dośw. II) w czasie ekspozycji wpłynął również niejednakowo na wzrost radioaktywności poszczególnych organów.

Tabela 8

Porównanie stosunku radioaktywności serii 0,1 mg B/wazon $\frac{\text{po 10 godz.}}{\text{po 5 godz.}}$ ze stosunkiem radioaktywności $\frac{SB_k}{S}$ (czas ekspozycji 5 godz.)

Część rośliny	Doświadczenie I			Doświadczenie II		
	0,1 mg B/wazon			0,1 mg B/wazon po 5 godz.		
	po 5 godz.	po 10 godz.	stos. radioak. $\frac{\text{10 godz.}}{\text{5 godz.}}$	S	SB_k	stos. radioakt. $\frac{SB_k}{S}$
Liść mały	1,30	13,58	10,4	0,28	2,58	9,1
Wierzchołek	0,27	3,90	14,5	0,33	4,37	13,3
Ogonek	4,12	9,00	2,2	3,42	10,12	2,9
Łodyga	5,21	21,58	4,1	3,92	21,46	5,4
Korzeń	0,58	12,62	2,2	1,54	9,42	6,1
Cała roślina	11,48	60,69	5,3	9,50	47,96	5,2

Gdyby bor wpływał bezpośrednio na szybkość absorpcji lub przemieszczenia, wówczas po krótszym czasie ekspozycji można by oczekiwać w kombinacji SB_k podobnego rozkładu radioaktywności, jak w przypad-

ku przemieszczania samej sacharozy po dłuższym czasie ekspozycji. Aby sprawdzić, czy istnieje taka prawidłowość w tabeli 8 porównano stosunek radioaktywności organów serii 0,1 mg B po 10 godz. do radioaktywności po 5 godz. ze stosunkiem radioaktywności roślin, którym dano sacharozę + B_k do radioaktywności kombinacji z samą sacharozą.

Jak widać, we wszystkich organach, oprócz korzeni, stosunki te są bardzo zbliżone, co sugeruje, że bor wprowadzony przez korzenie przyspiesza przebieg badanych procesów. Należy bowiem pamiętać, że intensywność przemieszczania zależy zarówno od szybkości, jak i ilości przemieszczanych związków.

Podsumowując wyniki uzyskane w opisanych doświadczeniach należy stwierdzić, że niniejsza praca stanowi próbę określenia charakteru wpływu boru na wędrówkę cukrów w roślinach. W przeciwieństwie do poprzednich prac wykonanych na ten temat starano się możliwie dokładnie określić fizjologiczny stan roślin wskazujący na stopień deficytu boru. Niestety jednak i te doświadczenia nie dały ostatecznego wyjaśnienia badanych zagadnień, które wymagają dalszych jeszcze, bardziej szczegółowych, badań.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. Przeprowadzono badania nad wpływem boru na przemieszczanie C^{14}, wprowadzonego do liści fasoli jako C^{14}-sacharoza. Doświadczenia prowadzono na młodych siewkach.

2. Badano zarówno wpływ zasobności roślin w bor, jak i wpływ dostarczonego boru w czasie oddziaływania sacharozą na przebieg procesu przemieszczania C^{14}.

3. Wykazano wpływ stopnia zaopatrzenia roślin w bor na przemieszczanie sacharozy. Radioaktywność roślin ubogich w bor była kilkakrotnie niższa od radioaktywności roślin lepiej zaopatrzonych w ten pierwiastek, pomimo że nie obserwowano zewnętrznych objawów braku boru ani nekrozy tkanek floemu, ani też różnic w zawartości cukrów rozpuszczalnych, czy też w stopniu uwodnienia tkanek. Zahamowanie przemieszczania C^{14} u roślin ubogich w bor nie mogło być wynikiem zmian anatomo-morfologicznych floemu.

4. Bor wprowadzony przez korzenie jednocześnie z sacharozą wpłynął na przemieszczanie C^{14}. Wydaje się, że bor wprowadzony do liści wraz z sacharozą wpłynął głównie na wzrost absorpcji bez większego wpływu na intensywność przemieszczania.

5. Dostarczenie boru w tym samym czasie, w którym wprowadzono sacharozę, nie spowodowało wyraźnego wzrostu intensywności przemieszczania u roślin dobrze zaopatrzonych w bor.

6. Istnieje bliska fizjologiczna zależność między procesem przemieszczania cukrów i działaniem boru warunkującym przenikanie cukrów do komórek lub też przemieszczanie węglowodanów poprzez komórki miękiszowe lub rurki sitowe. Brak jednak dostatecznych danych by sądzić, czy ta zależność jest pośrednia czy bezpośrednia.

Pani profesor dr H. Bireckiej składam serdeczne podziękowanie za cenne rady i krytyczne uwagi udzielane mi w czasie wykonywania niniejszej pracy.

Serdecznie dziękuję również kol. mgrowi T. Wodzickiemu, mgr. J. Skupieńskiej i mgrowi E. Nalborczykowi za pomoc przy wykonywaniu doświadczeń.

Zakład Fizjologii Roślin S.G.G.W.
w Warszawie

(Wpłynęło dn. 22.2.1960 r.)

SUMMARY

1. Experiments were carried out on the influence of boron on the translocation of C^{14} introduced into the leaves of beans as C^{14} sucrose. For experiments bean seedlings were used.

2. The influence of boron supply and boron added during sucrose treatment on the translocation of C^{14} was investigated.

3. It was showed that the amount of boron supply affected the translocation of sucrose. The radioactivity of plants on a low level of boron was several times lower than of plants with a high content of this element, though the former plants manifested no external symptoms of boron deficiency the tissue of their phloem did not show necrosis, and they showed differences neither in the content of soluble sugars nor in the hydration of tissues. The inhibition of C^{14} migration in plants with a low boron content could have been caused neither by anatomical nor morphological changes of the phloem.

4. Boron supplied to plants through the roots simultaneously with saccharose influenced the migration of C^{14}. It seems that boron introduced into leaves together with sucrose caused mainly an increase of absorbtion and had no major effect on the intensity of migration.

5. In plants with a suitable amount of boron the supply of boron simultaneously with sucrose caused no marked increase in the intensity of translocation.

6. There was a close physiological relation between the proces of sugar migration and the function of boron controlling this migration of sugars into cells or translocation of carbohydrates through parenchyma cells or sieve-tubes. However, obtained data were insufficient to determine whether this relation was direct or indirect.

LITERATURA

Anisimow A. A., 1959, Fizjołogia rast. 6: 138—143.
Baker J. E., Gauch H. G., Dugger W. M., 1956, Plant Physiol. 31: 90—94.
Craigie J., Krotkov G., Wetmore R. H., 1958, Americ Journ. of Bot. 45: 373—377.
Dugger W. M., Humphreys J. E., Calhoun B., 1957, Plant Physiol. 32: 364—370.
Day B. E., 1952, Plant Physiol. 27: 143—152.
Gauch H. G., Dugger W .M., 1953, Plant Physiol. 28: 457—466.
Nelson C. D., Gorham P. R., 1957, Can. J. Bot. 35: 339—347.
Nelson C. D., Gorham P. R., 1959, Can. J. Bot. 37: 431—438.
Michniewicz M., Kurowska K., 1959, Acta Agrobotanica 8: 5—10.
Odhnoff C., 1957, Physiologia Plantarum 10: 984—1000.
Overbeck J., 1956, Annual Review of Plant Physiol. 7: 315—372.
Palser B., Wayne J. McIlrath, 1956, Bot. Gaz. 118: 53.
Pristupa N. A., Kursanow A., 1957, Fizj. Rast. 4: 417—424.
Puttman E. W., Hassid W. Z., Krotkov G., Barker H. A., 1948, Journ. of Biological Chem. 173: 785—795.
Puttman E. W., Hassid W. Z., 1952, Journ. of Biological Chem. 196: 749—756.
Reed H. S., 1947, Hilgardia Journ. Agric. Science, Publ. by the California Agric. Exp. St. 17: 377—411.
Sisler E. C., Dugger W .M., Gauch H. G., 1956, Plant Physiol. 31: 11—17.
Skok J., 1957 a, Plant Physiol. 32: 648—654.
Skok J., 1957 b, Plant Physiol. 32: 308—312.
Skok J., Wayne J., McIlrath, 1958 a, Plant Physiol. 33: 428—431.
Skok J., 1958 b, Trace elements, 227—243. Acad. Press, New York — London.
Torssell K., 1956, Physiologia Plantarum 9: 652—664.
Turkina M. W., 1959, Fizj. rast. 6: 709—718.
Turnowska-Starck Z., 1959, Acta Soc. Bot. Pol. 28: 409—424.
Turnowska-Starck Z., 1960, Acta Soc. Bot. Pol. 29: 219—247.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Badania nad fizjologiczną rolą manganu w roślinach

Some experiments on the physiological role of the manganese in tomato plants

M. RUSZKOWSKA

I. PRZEGLĄD LITERATURY

Najbardziej charakterystyczną cechą roślin wykazujących niedobór manganu są typowe zmiany w zabarwieniu blaszki liściowej: cała powierzchnia żółknie, a tylko wzdłuż wiązek naczyniowo-sitowych pozostaje zielona. Te objawy nasuwały badaczom myśl, że mangan bierze udział w syntezie chlorofilu, co jednak nie zostało dotąd udowodnione. Sherman G. D. (1941, cytuje Maksimow 1949, za Harmerem 1941) twierdzi, że powodem chlorozy przy braku manganu jest wytrącanie się żelaza wzdłuż „żyłek". Eltlinge E. T. (1941) zaobserwowała, że u pomidorów zarówno przy braku Mn, jak i przy jego dawce toksycznej, chloroplasty przybierają żółtozieloną barwę, tracą stopniowo ziarna skrobi, a w końcu ulegają całkowitemu rozpadowi. Równoczesna obecność dużej ilości kryształów soli i kropel tłuszczu świadczyłaby o wadliwej przemianie materii.

Shive J. W., Somers I. I. i Gilbert S. G. (1941, 1942, cyt. Szkolnik 1950 oraz Mulder i Gerretsen 1952) wysunęli hipotezę, że dla normalnego rozwoju rośliny konieczny jest odpowiedni stosunek Fe: Mn i w środowisku odżywczym i w tkance roślinnej. Stosunek ten powinien mieścić się w granicach od 1,5:1 do 2,5:1. Gdy jest on szerszy niż 2,5:1, mogą wystąpić objawy nadmiaru Fe, które są identyczne z oznakami niedoboru Mn. Jeśli stosunek Fe: Mn jest węższy od 1,5:1 — rośliny cierpią na nadmiar manganu, co równa się brakowi żelaza. Sprawdzając hipotezę Shive liczni badacze stwierdzili, że zakres stosunku Fe: Mn, wymagany dla normalnego rozwoju roślin, jest bardziej szeroki. Oulette G. J. (1951) znalazł, że dla optymalnego rozwoju soi ma znaczenie nie tylko stosunek Fe: Mn, ale i bezwzględne ilości tych składników

w pożywce. Również wielu badaczy uważa, że objawy nadmiaru Mn nie są identyczne z objawami niedoboru Fe i odwrotnie.

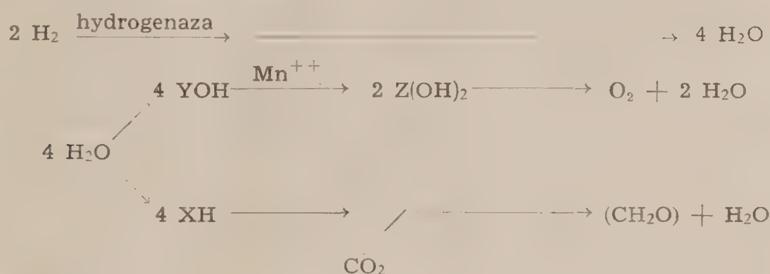
Przy badaniu fizjologicznych funkcji manganu może najwięcej uwagi zwraca się ostatnio na udział tego mikroelementu w procesach oksydoredukcyjnych. Już Lundegårdh H. (1939) sądził, że mangan jest istotnym elementem w systemie oddechowym roślin. Mc Elroy W. D. i Alvin Nason (1954) uważają, że mangan i magnez są pośrednimi przenośnikami elektronów w tych enzymatycznych reakcjach, w których biorą udział fosforany. Mangan jest również czynny w reakcjach dekarboksylacji i hydrolizy (Ochoa S. 1948, Vennesland B. i in. 1949, Salles J. B. V. i in. 1950, cyt. Mulder i Gerretsen 1952). W metabolizmie azotowym działalność wielu peptydaz roślinnych i zwierzęcych wymaga obecności metalicznych jonów: często manganu, a także kobaltu, żelaza i magnezu. Według Frutona J. S. (1946, cyt. Mc Elroy i Alvin Nason 1954) mangan jest specyficznym składnikiem prolidazy, katalizującej przejście glicyl-proliny w prolinę.

Od dłuższego czasu badacze dyskutują na temat udziału manganu w redukcji azotanów w roślinach (Burström H. 1939, 1940, Friederichsen I. 1944 oraz Hewitt E. J. i in. 1949, cyt. Mulder i Gerretsen 1952). Doświadczenia Mendela J. L. i Vissera D. W. (1951 l.c.) wskazują, że w roślinach istnieją prawdopodobnie dwa mechanizmy asymilacji azotanów. Burström H. (1949 l.c.) uważa, że w korzeniach pszenicy i mangan i molibden są podstawowymi elementami przy asymilacji azotanów oraz, że w liściach roślin wyższych i u mikroorganizmów mechanizm asymilacji jest odmienny niż w korzeniach.

Rudra M. N. i in. (1938, 1944), Hester J. B. (1941, cyt. Mapson L. W. 1955), Ruszkowska M. i Zinkiewicz (1953) oraz inni stwierdzili korzystne działanie manganu na zawartość witaminy C. Nie ma jednak dotąd dowodów na bezpośredni udział manganu w syntezie kwasu askorbinowego. Mapson L. W. (1955) przypuszcza, że wpływ ten jest raczej pośredni, w związku z kluczową rolą manganu w cyklu kwasów trójkarboksylowych.

Już Hiltner E. (1924, cyt. Mulder i Gerretsen 1952) w swoich badaniach nad szarą pasiastością u owsa stwierdził ścisły związek między asymilacją CO_2 a działalnością manganu w roślinach. Gerretsen F. C. (1949, 1950) zaobserwował przy niedoborze manganu u owsa zmniejszenie się asymilacji CO_2 do 25—40%. Na podstawie pomiarów potencjałów oksydo-redukcyjnych w oświetlonych suspensjach liści owsa autor ten wnioskował, że w roślinie istnieje fotosyntetyczny układ oksydo-redukcyjny, w którym mangan i żelazo grają rolę dopełniających czynników utleniająco-redukujących. Wysunął on hipotezę, że przy fotolizie wody Mn^{++} jest odbiorcą elektronu od jonu OH^-, a Fe^{++}

— dawcą elektronu jonowi H^+. Pirson A. i Bergman L. (1955) przeprowadzając doświadczenia nad zielonymi glonami, rosnącymi autotroficznie, heterotroficznie lub miksotroficznie, potwierdzili przypuszczenia Gerretsena, że mangan jest niezbędnym składnikiem fotosyntetycznego aparatu. Dalsze badania nad udziałem manganu w asymilacji CO_2 podjął Kessler E. (1957). Do doświadczeń swych użył on glonów *Ankistrodesmus braunii*, zawierających hydrogenazę i dających się adaptować do atmosfery wodoru. Po takiej adaptacji glony *A. Braunii* są zdolne do tzw. fotoredukcji, czyli fotosyntezy bez wydzielania tlenu. Kessler stwierdził, że brak manganu w pożywce hamuje fotosyntezę, lecz nie hamuje fotoredukcji. Wynikałoby z tego, że mangan jest czynny przy tworzeniu fotonadtlenku w myśl schematu:



Przegląd literatury obrazuje, że z biegiem lat fizjologiczne funkcje manganu w roślinach są coraz lepiej poznawane; z drugiej jednak strony widzimy, że dużo jest tu jeszcze luk i poglądów będących w sferze dyskusji i hipotez.

II. BADANIA WŁASNE

Badania nad udziałem manganu w fotosyntezie były dotychczas prowadzone częściej na jednokomórkowych glonach (Pirson i Bergman 1955, Kessler 1957, i in.) niż z wyższymi roślinami (Gerretsen 1949, 1950). Autorka postanowiła zbadać wpływ Mn na asymilację CO_2 u pomidora — rośliny czułej na niedobór manganu i dogodnej jako obiekt doświadczalny.

We wstępnych badaniach usiłowano poznać gospodarkę manganową w tej roślinie. W tym celu badano wpływ żywienia manganem w różnych okresach wegetacji na rozwój pomidorów (doświadczenie 1 wazonowe z 1952 roku i doświadczenie 2 w kulturach wodnych z 1954 roku). W doświadczeniach tych zwrócono uwagę między innymi na stosunek Fe: Mn, jako na czynnik mogący rzucić światło na udział manganu w procesach fotosyntetycznych (w myśl nie potwierdzonej jeszcze hipotezy Gerretsena 1949, 1950). W dalszym toku badań usiłowano

uchwycić różnice w metabolizmie roślin optymalnie zaopatrzonych w mangan i roślin wykazujących typowe objawy niedoboru manganu. Różnice te miały dać również podstawę do wnioskowania o roli manganu w aparacie fotosyntetycznym. Chcąc stworzyć roślinom zróżnicowane warunki fotosyntezy część roślin zacieniano (doświadczenie 3 wazonowe z 1956 roku i doświadczenie 4 z 1957 roku) lub sztucznie wzbogacano w cukry przez dolistne dokarmianie sacharozą (doświadczenie 4 wazonowe z 1957 roku).

Następne badania, które autorka ma zamiar prowadzić w najbliższej przyszłości, będą poświęcone bezpośrednim pomiarom natężenia fotosyntezy u roślin zaopatrzonych lub nie zaopatrzonych w mangan.

Wszystkie doświadczenia (ogółem 4) przeprowadzono w hali wegetacyjnej metodą wazonową na piasku (doświadczenie, 1, 3 i 4) oraz metodą kultur wodnych (doświadczenie 2). W celu pozbycia się śladów manganu, piasek kwarcowy, używany do doświadczeń (pochodzący z wydm nadwiślańskich) płukano w 10% HCl; balony na wodę destylowaną oraz słoje do kultur wodnych wytrawiano w HCl. Wodę dwukrotnie destylowano lub przegotowywano z $CaCO_3$ (2 g $CaCO_3$ na 1 l wody). Pożywkę mineralną z solami pro analysi oczyszczano metodą S t o u t a P. R. i A r n o n a D. J. (1939, cyt. W. S t i l e s 1946). W toku doświadczeń przekonano się, że najlepszym sposobem uzyskania roślin wykazujących wyraźne objawy niedoboru manganu, było podniesienie odczynu podłoża do pH$>$7 przez zastosowanie odpowiedniej dawki $CaCO_3$. Metodyka przeprowadzonych doświadczeń wegetacyjnych będzie podana bardziej szczegółowo przy opisie każdego doświadczenia.

Metodyka analiz chemicznych i biochemicznych przedstawiała się następująco:

1. O z n a c z a n i e m a n g a n u przeprowadzano kolorymetryczną nadsiarczanową metodą wg B e l i H o r w a t h a, zmodyfikowaną przez M u s i e r o w i c z a A. i in. (1948), a przystosowaną przez autorkę do oznaczeń w materiale roślinnym. Pomiary kolorymetryczne w zmineralizowanej próbce (ekwiwalent 2 g s.m. w 100 ml roztworu) wykonywano w fotometrze Pulfricha przy użyciu filtru S-F 53 i kuwety 2 cm. Wyniki podawano w ppm Mn zawartego w suchej masie, a także przeliczano na plon manganu w γ (= 0,000001 g) z 1 rośliny lub roślin z 1 wazonu.

2. O z n a c z a n i e ż e l a z a w materiale roślinnym wykonywano kolorymetryczną metodą rodankową wg S c h i l l a k a R. (1954). Pomiary kolorymetryczne w zmineralizowanej próbce (ekwiwalent 2 g s. m. w 100 ml roztworu) przeprowadzano w fotometrze Pulfricha przy użyciu filtru S-F 50 i kuwety 5 cm — ściśle po 15 minutach od chwili zadania badanego roztworu rodankiem amonu. Wyniki podawano jak przy Mn.

3. Azot ogólny oznaczano miareczkowo wg metody Kjeldahla; destylację amoniaku przeprowadzano w aparacie Parnasa.

4. Azot azotanowy. Po zmineralizowaniu próbki roślinnej w stęż. kwasie siarkowym (jak w p. 3) przeprowadzano redukcję azotanów stopem Dewarda, a następnie destylowano azot w postaci amoniaku uzyskując sumę azotu: tzw. „ogólnego" + azotanowego. Ilości azotu azotanowego obliczano z różnicy po odjęciu azotu „ogólnego".*.

Wyniki dotyczące azotu podawano w procentach s. m. lub przeliczano na plon N w mg z 1 rośliny lub roślin z 1 wazonu.

5. Cukry redukujące i ulegające łagodnej hydrolizie oznaczano w liściach i owocach metodą Bertranda (oznaczanie miareczkowe) wg „Kalendarza Przemysłu Spożywczego r. 1954". Oznaczenia wykonywano w materiale uprzednio zakonserwowanym wg Chmielewskiej J. (1955). Wyniki podawano w ‰ glukozy lub sacharozy zawartych w świeżej masie liści czy owoców, a także przeliczano na plon cukrów zawartych w owocach z 1 rośliny lub owocach z 1 wazonu.

6. Kwas askorbinowy w owocach pomidorów oznaczano metodą Tilmansa wg Ruszkowskiej i Zinkiewicz (1953). Próbki owoców ekstrahowano w 2% roztworze kwasu meta-fosforowego. Wyniki podawano w mg-% kwasu l-askorbinowego w przeliczeniu na świeżą masę owoców.

7. Intensywność oddychania oznaczano metodą bezpośrednią Warburga wg Brzeskiego W. i Kaniugi Z. (1956). Wyniki podawano w µl O_2 pobranego w ciągu 60 minut przez 200 mg skrawków świeżych liści.

8. Aktywność katalazy oznaczano w aparacie Warburga wg Grabianowskiej B. (1954). Wyniki podawano w µl O_2 wydzielonego po 8 (lub 4) minutach przez suspensję tkanki liściowej o określonej koncentracji.

9. Analizę chromatograficzną barwników chloroplastów wykonano wg Czosnowskiego J. i Szweykowskiej A. (1954).

Analizując świeże liście wybierano liście z górnych pięter lecz całkowicie już wyrośnięte.

A. Żywienie manganem w różnych okresach rozwojowych pomidorów

Doświadczenie 1. Wazonowe z pomidorami na piasku, rok 1952. Doświadczenie założono 4. VII w doniczkach o pojemności 1 kg piasku (płukanego w HCl). Skład pożywki mineralnej (pożywka wg Brenchley.

---

* Metoda ta nie jest bezbłędna, ponieważ pewne ilości tlenków azotu mogą ulatniać się w czasie spalania materiału roślinnego, przed ich zredukowaniem. Autorka nie mogła jednak zastosować bardziej właściwej metody, np. metody Reifera I. (1939), z powodu trudności w nabyciu odczynników, a także z powodu innych trudności technicznych.

zmodyfikowana w Pracowni Fizjologii Żywienia Roślin IUNG w Puławach) na 1 kg piasku: 0,058 K_2HPO_4, 0,042 g KH_2PO_4, 0,033 g $MgSO_4$, 0,075g K_2SO_4, 0,24g KNO_3, 0,18g $Ca/NO_3/_2$, 0,6g $CaCO_3$, 5 mg $FeCl_3$, 0,83mg H_3BO_3, 0,16 mg $CuSO_4$, 0.25mg $ZnSO_4$ i 0,25mg molibdenianu amonu. Węglan wapnia wymieszany był z całą zawartością piasku; reszta pożywki dana (w roztworze) trzykrotnie: a — 4.VII, przy zakładaniu doświadczenia, b — 26.VII, c. — 17.VIII. Każda seria składała się z 5 powtórzeń; w jednej doniczce rósł 1 pomidor odmiany „Karzełek Puławski", przepikowany z piaskowego rozsadnika po wykiełkowaniu. Rośliny przez cały czas trwania doświadczenia podlewano do 50% całk. pojemności wodnej piasku wodą dwukrotnie destylowaną.

PLAN DOŚWIADCZENIA

1. Kontrola (Mn = 0);
2. Optymalna dawka Mn (= 7,5 mg Mn/1 kg piasku) wprowadzona do pożywki:
   a) na początku wegetacji;
   b) przed kwitnieniem;
   c) w okresie zawiązywania owoców;
3. Mn dany w 2 dawkach (po 3,75 mg Mn/1 kg piasku):
   a) na początku wegetacji;
   b) przed kwitnieniem.

W seriach bez dodatku manganu już po 10 dniach od chwili posadzenia roślin pojawiły się charakterystyczne objawy braku manganu: żółknięcia blaszki liściowej, która tylko wzdłuż wiązek naczyniowo-sitowych pozostawała zielona. Objawy te, przypominające „siateczkę" trwały u roślin kontrolnych przez cały czas doświadczenia. U roślin, którym mangan dano w późniejszych okresach (a więc przed kwitnieniem i w okresie zawiązywania owoców), objawy te, po wprowadzeniu manganu do pożywki, w przeciągu tygodnia prawie całkowicie zanikały, pozostając jedynie na częściach niektórych dolnych liści. Pozielenienie następowało najpierw u listków najmłodszych, potem stopniowo u coraz starszych i szło od nasady liścia ku wierzchołkowi (patrz ryc. 1).

Wobec spóźnionej pory rośliny ścięto, przed całkowitym wykształceniem owoców, dnia 10.X. Wyniki doświadczenia ujmuje wykres (ryc. 2). Na ich podstawie można stwierdzić:

1. W warunkach omawianego doświadczenia (silny niedobór Mn) wpływ manganu uwidocznił się najdobitniej na owocowaniu pomidorów. Najwyższe plony owoców uzyskano w serii, gdzie mangan był dany na początku wegetacji. Mangan wprowadzony do pożywki przed kwitnieniem dał plony owoców dużo niższe. Przy dawce Mn w okresie zawiązywania owoców, pomidory zupełnie się nie wykształciły (podobnie, jak i w kontroli Mn=O).

2. Wpływ manganu na plon suchej masy części wegetatywnych (łodygi i liście) był dużo mniejszy niż na plon owoców. O wysokości tego plonu decydowała zarówno dawka manganu wprowadzona do pożywki na początku wegetacji, jak i przed kwitnieniem.

3. Na zawartość kwasu askorbinowego w owocach w większym stopniu wpłynęła dawka manganu wprowadzona przed kwitnieniem niż na początku wegetacji.

D o ś w i a d c z e n i e 2 z pomidorami w kulturach wodnych; rok 1954. W doświadczeniu uwzględniono osiem kombinacji wprowadzania lub wyłączania manganu z pożywki w różnych okresach rozwoju pomidorów



Ryc. 1. Objawy niedoboru manganu u pomidorów: *A* — listek pomidora dostatnio odżywionego manganem (intensywnie zielony); *B* — listek pomidora, który otrzymał mangan w pożywce przed kilkoma dniami: objawy niedoboru Mn zanikają, widoczne są jedynie na brzegach i wierzchołku listka; *C* — listek pomidora z typowymi objawami niedoboru manganu w postaci tzw. „siateczki"

(patrz tabl. 1). Doświadczenie założono w 1-litrowych słojach. Do kultur stosowano wodę dwukrotnie destylowaną z dodatkiem pożywki wg O l s e n a C. (1950). Skład pożywki na 1-litrowy słój: 0.84 g $Ca(NO_3)_2$, 0.50g $MgSO_4$, 0,12g KH_2PO_4, 0.75g KNO_3, 0,4mg H_3BO_3, 0,1mg $CuSO_4$, 0,2mg $ZuSO_4$, 0.05mg molibdenianiu amonu i 5 ml 1% roztworu cytrynianu żelazowego. Dla uzyskania odczynu pożywki powyżej pH 7 dodadano po 2g $CaCO_3$ na słój. Każda seria miała 6 powtórzeń. W każdym słoju rósł jeden pomidor odmiany „Karzełek Puławski". Kultury były co dzień przewietrzane, wodę w słojach uzupełniano w miarę potrzeby, mniej więcej co drugi dzień. W ciągu wegetacji całkowitą pożywkę mine-

Tabela 1

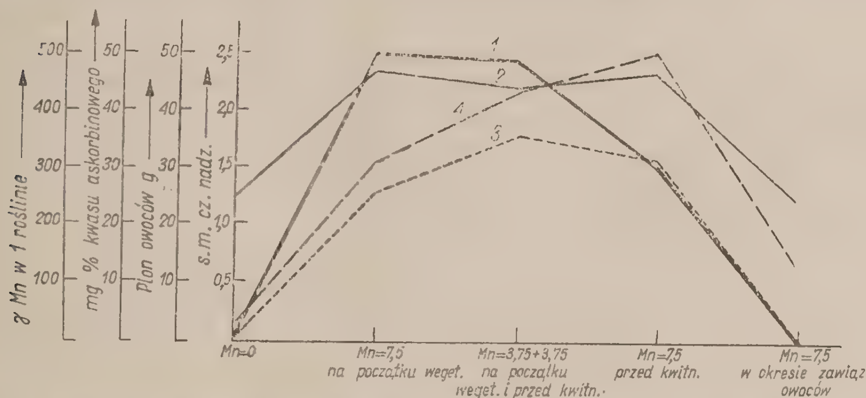
Żywienie pomidorów manganem w różnych okresach ich rozwoju
Doświadczenie 2 w kulturach wodnych, 1954 r.

Seria	Termin wprowadzenia manganu d pożywki				Owoce			Część nadziemna: liście i łodygi						Korzenie
	a 14.V.	*b* 9.VI.	*c* 2.VII	*d* 31.VII.	śr. plon z 1 krzaka g	śr. liczba z 1 krzaka szt.	zawart. kwasu askorbin. w świeżych owocach mg—%	średni plon suchej masy z 1 rośliny g	zawartość Mn w s.m. ppm	zawartość Mn w s.m. średnio w 1 roślinie γ	zawartość Fe w s.m. ppm	zawartość Fe w s.m. średnio w 1 roślinie γ	stosunek Fe: Mn	średni plon suchej masy z 1 rośliny g
I	—	—	—	—	126,6	4,4	15,0	6,66	90,0	599,4	352,5	2347,6	3,9:1	1,16
II	—	—	—	+	144,0	4,2	22,1	6,05	92,5	559,6	371,0	2244,5	4,0:1	1,13
III	—	—	+	+	128,8	3,6	19,7	6,35	125,0	793,7	283,5	1800,2	2,3:1	1,31
IV	—	+	+	+	**195,4**	**6,8**	24,5	**8’25**	240,0	1980,0	210,0	1732,5	0,9:1	**1,71**
V	+	+	+	+	172,8	4,8	23,7	7,54	307,5	2318,0	263,0	1983,2	0,9:1	**1,60**
VI	+	+	+	—	**230,4**	**7,2**	20,8	**9,54**	330,0	3148,0	242,5	2313,4	0,7:1	**1,56**
VII	+	+	—	—	179,0	6,0	19,1	**8,51**	257,5	2191,0	326,0	2774,3	1,3:1	**1,64**
VIII	+	—	—	—	177,8	4,2	20,1	**8,37**	145,0	1213,0	373,5	3126,2	2,6:1	**1,57**
Przedział ufności (5%) L. st. swob. 32					59,9	2,17		1,39						0,37

Objaśnienia:
a: pomidory w stadium 1-ych listków; *b* : stadium przed kwitnieniem; *c* : początek zawiązywania owoców; *d* : początek dojrzewania owoców;
— : mangan wyłączony z pożywki;
+ : mangan dany do pożywki w ilości 1 mg Mn /1 litr pożywki/ roślinę (dawka optymalna w warunkach kultur wodnych).
Liczby wyróżnione drukiem różnią się w sposób istotny od wyników serii I.

ralną czterokrotnie zmieniono. Owoce zbierano stopniowo w miarę dojrzewania.

U roślin, które na początku wegetacji nie otrzymały manganu (tzn. serie I, II, III i IV — patrz tab. 1), objawy braku tego mikroskładnika wystąpiły około 10 dnia od chwili założenia doświadczenia. Objawy te jednak ulegały czasami częściowemu zatarciu, widocznie przez dopływ do rośliny śladów manganu (z wody, pożywki czy naczyń). Gdy przy zmia-



Ryc. 2. Żywienie manganem w różnych okresach rozwoju pomidorów. Doświadczenie z pomidorami na piasku, 1952 r.

1 — średni plon św. masy w g; *2* — śr. plon suchej masy części nadziemnych w g; *3* — % kw. askrobiowego w owocach w mg; *4* — śr. zawartość Mn w roślinie w γ.

nie pożywki dodawano mangan tym roślinom, które go poprzednio nie miały, jego wpływ uwidoczniał się bardzo szybko, bo już na 3 dzień. Objawy niedoboru manganu znikały wówczas w sposób opisany przy doświadczeniu 1. Natomiast te rośliny, które na początku wegetacji dostały mangan, a później mikroskładnik ten wyłączono im z pożywki (serie VI, VII i VIII — patrz tab. 1), do końca okresu wegetacyjnego nie wykazały objawów niedoboru manganu. Byłoby to dowodem na przemieszczanie manganu ze starszych części rośliny, odżywionych manganem. do części młodych, które wyrosły na pożywce bezmanganowej.

Liczbowe wyniki doświadczenia podaje tabela 1. Można z niej wysnuć następujące wnioski:

1. Plon i ilość owoców pomidorów wzrósł znacznie pod wpływem manganu, ale tylko wtedy, gdy mikroelement ten był obecny w pożywce w okresie przed kwitnieniem i na początku zawiązywania owoców (termin b. i c.). Natomiast zawartość kwasu askorbinowego w owocach podniosla się również pod wpływem dawki Mn zastosowanej w czasie dojrzewania pomidorów (termin d).

2. Wydaje się, że o plonie suchej masy części wegetatywnych (liście

i łodygi oraz korzenie) w dużej mierze zadecydowała dawka manganu wprowadzona do pożywki od razu na początku wegetacji (termin a) lub przed kwitnieniem (termin b).

Przy omawianiu wyników doświadczenia 2 należałoby podkreślić dwie sprawy:

1. Rośliny z serii kontrolnej (seria I), które nie otrzymały manganu w pożywce, pobrały go, pomimo to, przeszło 600 γ na 1 roślinę *. Głównym źródłem tych zanieczyszczeń mogła być woda (mimo dwukrotnej destylacji), której rosnące przez 4 miesiące w kulturach wodnych pomidory zużywały znaczne ilości, bo średnio ok. 0,5 l dziennie na roślinę. Ślady manganu mogły przechodzić do wody z balonów, w których była ona przechowywana, lub ze słojów, w których rosły rośliny, a może i z odczynników chemicznych. Ten spory dopływ manganu do roślin, które miały być zupełnie pozbawione tego mikroskładnika, bez wątpienia zaciemnił obraz wpływu manganu na rozwój pomidorów.

2. Niezrozumiały jest fakt, że rośliny z serii V, tj. te, które otrzymywały mangan przez cały czas wegetacji, dały niższe plony niż pomidory z serii IV i VI, a także pobrały mniej manganu od roślin z serii VI (tab. 1).

W związku z pobieraniem manganu przez pomidory z omawianego doświadczenia nasuwają się następujące uwagi:

a. W początkowych stadiach rośliny pobierały więcej manganu niż w końcowych okresach wegetacji. Te rośliny, które dostały mangan na początku doświadczenia, pobrały go z pożywki w całości, natomiast te, które otrzymały mangan później, pobrały go tylko częściowo.

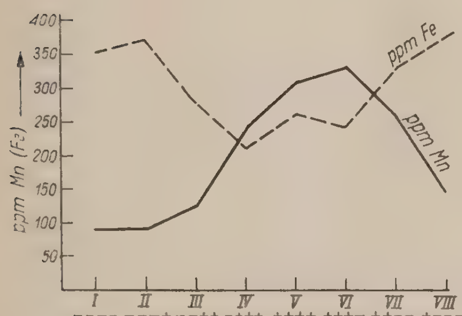
b. Rośliny, które zawierały więcej manganu, pobrały nieco mniej żelaza (patrz wykres na ryc. 3 i tab. 1). Przeciętnie jedna roślina zawierała 2-3 mg Fe. Ponieważ w ciągu całej wegetacji rośliny otrzymały w formie cytrynianu ok. 35 mg Fe, więc znaczyłoby to, że ogromna większość żelaza pozostała w pożywce. Stosunek Fe: Mn w roślinach, które dały najwyższy plon owoców, wynosił od 0,7:1 do 0,9:1. U roślin, które dały niższe plony, stosunek Fe: Mn był dużo szerszy. Należy jednak pamiętać, że stosunek Fe: Mn w tkance roślinnej prawdopodobnie ulegał zmianom w ciągu wegetacji na skutek włączania lub wyłączania manganu z pożywki (poziom żelaza w pożywce był stale taki sam).

c. Przy oznaczaniu zawartości manganu i żelaza usiłowano zbadać, czy składniki te są rozłożone w całej roślinie równomiernie. W tym celu analizowano rośliny w stadium kwitnienia **: osobno część wierzchołkową łodygi (wierzchołek pędu z młodymi, nie wyrośniętymi liśćmi i kwiatostanami), a osobno dolną część łodygi ze starszymi liśćmi. Wyniki przedsta-

* W tabeli 1 nie uwzględniono zawartości manganu w korzeniach i owocach.

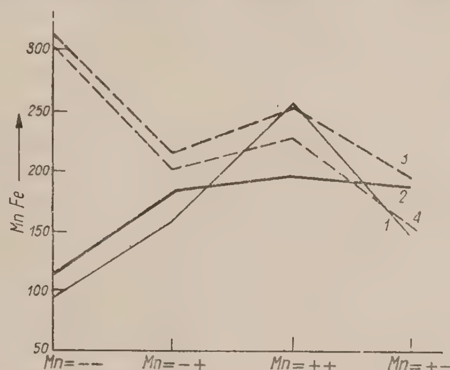
** Były to rośliny stanowiące rezerwę na wypadek, gdyby którąś z serii trzeba było uzupełnić.

wia wykres (ryc. 4). Rośliny, które w ogóle nie dostały manganu (seria Mn=--) zawierały go najmniej, przy czym w dolnej części zawartość ta była niższa niż w górnej. W serii Mn=—+, czyli tej, która dostała mangan dopiero przed kwitnieniem, oraz w serii Mn=+—, gdzie mangan był dany na początku wegetacji, a potem wycofany z pożywki, dolne części roślin zawierały mniej manganu niż górne. W serii Mn=++, która otrzymała mangan i na początku wegetacji i przed kwitnieniem, było przeciwnie: dolne piętra zawierały dużo więcej manganu niż górne. Na uwagę



Ryc. 3. Zawartość Mn i Fe w liściach i łodygach pomidorów żywionych manganem w różnych okresach rozwoju. Doświadczenie w kulturach wodnych 1954 r.

Na osi rzędnych cyfry rzymskie oznaczają poszczególne serie pomidorów żywionych manganem w różnych okresach rozwoju. Szczegółowe objaśnienia podane są w tabeli 1



Ryc. 4. Zawartość Mn i Fe w suchej masie liści i łodyg pomidorów będących w stadium kwitnienia. Doświadczenie w kulturach wodnych, 1954 r.

1 — Zawartość Mn w dolnych piętrach; 2 — Zawartość Mn w górnych piętrach; 3 — Zawartość Fe w górnych piętrach; 4 — Zawartość Fe w dolnych piętrach.

zasługuje, że w częściach górnych (z wyjątkiem serii Mn=——, silnie niedoborowej pod względem manganu) zawartości manganu były bardzo podobne.

Zawartość żelaza kształtowała się w tych roślinach jednakowo: młodsze części rośliny zawierały stale nieco więcej żelaza, niż dolne. Przy serii Mn=—— (silny niedobór Mn) względna zawartość żelaza była w roślinach najwyższa.

B. Funkcje fizjologiczne manganu, związane z procesem fotosyntezy u pomidorów

Wpływ manganu na proces fotosyntezy u pomidorów starano się zbadać w doświadczeniu 3 z 1956 roku i doświadczeniu 4 z 1957 roku. Nie mogąc przeprowadzić bezpośrednich pomiarów asymilacji CO_2 u roślin

doświadczalnych *, zagadnienie starano się rozwiązać na drodze pośredniej. W tym celu porównywano rośliny cierpiące na niedobór manganu z roślinami dostatnio odżywionymi tym mikroelementem, oznaczając w nich: zawartość cukrów, intensywność oddychania, aktywność katalazy, zawartość azotu amoniakalnego i azotanowego i in. Aby móc lepiej zaobserwować wpływ manganu na metabolizm pomidorów, usiłowano stworzyć tym roślinom zróżnicowane warunki asymilacji CO_2, zacieniając część roślin lub sztucznie wzbogacając w cukry przez dolistne dokarmianie sacharozą (o czym już wspomniano we wstępie).

METODYKA DOŚWIADCZEŃ

D o ś w i a d c z e n i e 3 z 1956 roku. Plan doświadczenia przedstawia tabela 2. Do doświadczenia użyto doniczek o pojemności 3 kg piasku (płukanego w HCl). W każdej doniczce rosły 4 pomidory odmiany „Karzełek Puławski", przepikowane z piaskowego rozsadnika zaraz po skiełkowaniu. Każda seria miała 12 powtórzeń. Roślinom dano pełne nawożenie mineralne (bez manganu lub z optymalną dawką Mn = 7,5 mg/1 kg piasku, wg O l s e n a, 1950); przy zakładaniu doświadczenia rośliny otrzymały pełną dawkę pożywki, taką jak na 1 l roztworu kultur wodnych, a potem w ciągu wegetacji trzy razy po pół dawki. Piasek przed założeniem doświadczenia wymieszano z 4 g $CaCO_3$ w celu podniesienia odczynu do pH ok. 7,5. Rośliny podlewano 2-krotnie destylowaną wodą do 50% całk. pojemności wodnej piasku. Rośliny zacieniane nakrywano dużymi pudłami z kartonu w południe każdego dnia: od 13.VI do 17.VI — na przeciąg 1 godziny, od 18.VI do 2.VII — na 2 godziny, a od 3.VII do 1.IX — na 3 godziny. Dbano, by rośliny w czasie zacieniania miały odpowiedni dopływ powietrza. Doświadczenie założono 5.VI. W początkowym okresie zawiązywania owoców pobrano z roślin reprezentatywne próbki liści; oznaczano w nich zawartość cukrów, intensywność oddychania, aktywność katalazy oraz przeprowadzono analizę barwników chloroplastów. Owoce zebrano 1.IX, gdy były już wyrośnięte, ale jeszcze zielone. Powodem zebrania owoców w stanie zielonym było to, że do analiz obcięto sporą ilość liści, więc dojrzewanie owoców odbywałoby się i tak w niezbyt naturalnych warunkach.

D o ś w i a d c z e n i e 4 z 1957 roku. W porównaniu do poprzedniego doświadczenia plan doświadczenia rozszerzono. Prócz serii zacienianych wprowadzono serie roślin dolistnie dokarmianych sacharozą (jakby przeciwstawność roślin zacienianych) oraz serie ze zwiększoną dawką molib-

* Z powodu braku odpowiedniej aparatury.

Tabela 2

Doświadczenie 3 z pomidorami na piasku w 1956 r.
(Wyniki po zakończeniu wegetacji)

Lp.	Seria	Plon świeżej masy średnio z 1 doniczki* g	Plon suchej masy śred. z 1 doniczki* g	% wody w świeżej masie	Mangan: śred. zawart. w s.m. ppm	Mangan: plon z 1 doniczki* γ	Żelazo: śred. zawart. w s.m. ppm	Żelazo: plon z 1 doniczki* γ	Stosunek Fe : Mn	Azot ogólny: % w s.m.	Azot ogólny: Plon z 1 doniczki* mg
	I. Część nadziemna: liście i łodygi										
1	Mn = 0 nie zacieniane	39,3	7,34	82,75	80,0	587,6	196,9	1446,0	2,5:1	3,18	233,5
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane	66,5	11,62	83,88	235,0	2729,8	171,6	1993,5	0,7:1	2,06	239,3
3	Mn = 0 zacieniane	56,0	7,69	87,30	80,0	615,0	189,3	1455,3	2,4:1	3,22	247,5
4	Mn = 7,5 mg zacieniane	88,4	11,66	88,34	220,0	2622,6	154,0	1835,8	0,7:1	2,10	250,0
	Przedział ufn. (5%) dla całości L. st. swob. 44		±1,268								
	Przedział ufn. (5%) dla nawoż. Mn (i dla zacien.)		±0,896								
	II. Korzenie										
1	Mn = 0 nie zacieniane		1,10		75,0	82,3	285,0	312,9	3,8:1	1,92	21,1
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane		2,61		210,0	549,1	254,0	664,2	1,2:1	1,28	33,5
3	Mn = 0 zacieniane		1,55		87,5	135,3	316,8	489,8	3,6:1	1,55	24,0
4	Mn = 7,5 zacieniane		2,96		215,0	635,3	265,3	783,9	1,2:1	1,15	34,0
	Przedział ufn. (5%) dla całości L. st. swob. 44		±0,344								
	Przedział ufn. (5%) dla nawoż. Mn (i dla zacien.)		±0,243								
	III. Owoce									Średnia liczba owoców szt.	
1	Mn = 0 nie zacieniane	24,34	1,78	92,70	90,0	159,9	147,2	261,5	1,6:1	3,3	
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane	79,01	6,24	92,10	87,5	546,2	85,3	532,4	1,0:1	6,8	
3	Mn = 0 zacieniane	5,21	0,41	92,07	130,0**	53,7	198,8	82,1	1,5:1	1,7	
4	Mn = 7,5 mg zacieniane	49,02	3,92	92,00	80,0	313,7	75,9	297,6	1,0:1	4,7	
	Przedział ufn. (5%) dla całości L. st. swob. 44		±3,049								
	Przedział ufn. (5%) dla nawoż. Mn (i dla zacien.)		±2,156								

* W jednej doniczce rosły 4 rośliny.
** Wynik niepewny — próbka mała, brak powtórzenia.

uchwycić różnice w metabolizmie roślin optymalnie zaopatrzonych w mangan i roślin wykazujących typowe objawy niedoboru manganu. Różnice te miały dać również podstawę do wnioskowania o roli manganu w aparacie fotosyntetycznym. Chcąc stworzyć roślinom zróżnicowane warunki fotosyntezy część roślin zacieniano (doświadczenie 3 wazonowe z 1956 roku i doświadczenie 4 z 1957 roku) lub sztucznie wzbogacano w cukry przez dolistne dokarmianie sacharozą (doświadczenie 4 wazonowe z 1957 roku).

Następne badania, które autorka ma zamiar prowadzić w najbliższej przyszłości, będą poświęcone bezpośrednim pomiarom natężenia fotosyntezy u roślin zaopatrzonych lub nie zaopatrzonych w mangan.

Wszystkie doświadczenia (ogółem 4) przeprowadzono w hali wegetacyjnej metodą wazonową na piasku (doświadczenie, 1, 3 i 4) oraz metodą kultur wodnych (doświadczenie 2). W celu pozbycia się śladów manganu, piasek kwarcowy, używany do doświadczeń (pochodzący z wydm nadwiślańskich) płukano w 10% HCl; balony na wodę destylowaną oraz słoje do kultur wodnych wytrawiano w HCl. Wodę dwukrotnie destylowano lub przegotowywano z $CaCO_3$ (2 g $CaCO_3$ na 1 l wody). Pożywkę mineralną z solami pro analysi oczyszczano metodą S t o u t a P. R. i A r n o n a D. J. (1939, cyt. W. S t i l e s 1946). W toku doświadczeń przekonano się, że najlepszym sposobem uzyskania roślin wykazujących wyraźne objawy niedoboru manganu, było podniesienie odczynu podłoża do pH>7 przez zastosowanie odpowiedniej dawki $CaCO_3$. Metodyka przeprowadzonych doświadczeń wegetacyjnych będzie podana bardziej szczegółowo przy opisie każdego doświadczenia.

Metodyka analiz chemicznych i biochemicznych przedstawiała się następująco:

1. O z n a c z a n i e m a n g a n u przeprowadzano kolorymetryczną nadsiarczanową metodą wg B e l i H o r w a t h a, zmodyfikowaną przez M u s i e r o w i c z a A. i in. (1948), a przystosowaną przez autorkę do oznaczeń w materiale roślinnym. Pomiary kolorymetryczne w zmineralizowanej próbce (ekwiwalent 2 g s.m. w 100 ml roztworu) wykonywano w fotometrze Pulfricha przy użyciu filtru S-F 53 i kuwety 2 cm. Wyniki podawano w ppm Mn zawartego w suchej masie, a także przeliczano na plon manganu w γ (= 0,000001 g) z 1 rośliny lub roślin z 1 wazonu.

2. O z n a c z a n i e ż e l a z a w materiale roślinnym wykonywano kolorymetryczną metodą rodankową wg S c h i l l a k a R. (1954). Pomiary kolorymetryczne w zmineralizowanej próbce (ekwiwalent 2 g s. m. w 100 ml roztworu) przeprowadzano w fotometrze Pulfricha przy użyciu filtru S-F 50 i kuwety 5 cm — ściśle po 15 minutach od chwili zadania badanego roztworu rodankiem amonu. Wyniki podawano jak przy Mn.

3. Azot ogólny oznaczano miareczkowo wg metody Kjeldahla; destylację amoniaku przeprowadzano w aparacie Parnasa.

4. Azot azotanowy. Po zmineralizowaniu próbki roślinnej w stęż. kwasie siarkowym (jak w p. 3) przeprowadzano redukcję azotanów stopem Dewarda, a następnie destylowano azot w postaci amoniaku uzyskując sumę azotu: tzw. „ogólnego" + azotanowego. Ilości azotu azotanowego obliczano z różnicy po odjęciu azotu „ogólnego".*.

Wyniki dotyczące azotu podawano w procentach s. m. lub przeliczano na plon N w mg z 1 rośliny lub roślin z 1 wazonu.

5. Cukry redukujące i ulegające łagodnej hydrolizie oznaczano w liściach i owocach metodą Bertranda (oznaczanie miareczkowe) wg „Kalendarza Przemysłu Spożywczego r. 1954". Oznaczenia wykonywano w materiale uprzednio zakonserwowanym wg Chmielewskiej J. (1955). Wyniki podawano w %% glukozy lub sacharozy zawartych w świeżej masie liści czy owoców, a także przeliczano na plon cukrów zawartych w owocach z 1 rośliny lub owocach z 1 wazonu.

6. Kwas askorbinowy w owocach pomidorów oznaczano metodą Tilmansa wg Ruszkowskiej i Zinkiewicz (1953). Próbki owoców ekstrahowano w 2% roztworze kwasu meta-fosforowego. Wyniki podawano w mg-% kwasu l-askorbinowego w przeliczeniu na świeżą masę owoców.

7. Intensywność oddychania oznaczano metodą bezpośrednią Warburga wg Brzeskiego W. i Kaniugi Z. (1956). Wyniki podawano w µl O_2 pobranego w ciągu 60 minut przez 200 mg skrawków świeżych liści.

8. Aktywność katalazy oznaczano w aparacie Warburga wg Grabianowskiej B. (1954). Wyniki podawano w µl O_2 wydzielonego po 8 (lub 4) minutach przez suspensję tkanki liściowej o określonej koncentracji.

9. Analizę chromatograficzną barwników chloroplastów wykonano wg Czosnowskiego J. i Szweykowskiej A. (1954).

Analizując świeże liście wybierano liście z górnych pięter lecz całkowicie już wyrośnięte.

A. Żywienie manganem w różnych okresach rozwojowych pomidorów

Doświadczenie 1. Wazonowe z pomidorami na piasku, rok 1952. Doświadczenie założono 4. VII w doniczkach o pojemności 1 kg piasku (płukanego w HCl). Skład pożywki mineralnej (pożywka wg Brenchley,

---

* Metoda ta nie jest bezbłędna, ponieważ pewne ilości tlenków azotu mogą ulatniać się w czasie spalania materiału roślinnego, przed ich zredukowaniem. Autorka nie mogła jednak zastosować bardziej właściwej metody, np. metody Reifera I. (1939), z powodu trudności w nabyciu odczynników, a także z powodu innych trudności technicznych.

zmodyfikowana w Pracowni Fizjologii Żywienia Roślin IUNG w Puławach) na 1 kg piasku: 0,058 K_2HPO_4, 0,042 g KH_2PO_4, 0,033 g $MgSO_4$, 0,075g K_2SO_4, 0,24g KNO_3, 0,18g $Ca/NO_3/_2$, 0,6g $CaCO_3$, 5 mg $FeCl_3$, 0,83mg H_3BO_3, 0,16 mg $CuSO_4$, 0.25mg $ZnSO_4$ i 0,25mg molibdenianu amonu. Węglan wapnia wymieszany był z całą zawartością piasku; reszta pożywki dana (w roztworze) trzykrotnie: a — 4.VII, przy zakładaniu doświadczenia, b — 26.VII, c. — 17.VIII. Każda seria składała się z 5 powtórzeń; w jednej doniczce rósł 1 pomidor odmiany „Karzełek Puławski", przepikowany z piaskowego rozsadnika po wykiełkowaniu. Rośliny przez cały czas trwania doświadczenia podlewano do 50% całk. pojemności wodnej piasku wodą dwukrotnie destylowaną.

PLAN DOŚWIADCZENIA

1. Kontrola (Mn = 0);
2. Optymalna dawka Mn (= 7,5 mg Mn/1 kg piasku) wprowadzona do pożywki:
   a) na początku wegetacji;
   b) przed kwitnieniem;
   c) w okresie zawiązywania owoców;
3. Mn dany w 2 dawkach (po 3,75 mg Mn/1 kg piasku):
   a) na początku wegetacji;
   b) przed kwitnieniem.

W seriach bez dodatku manganu już po 10 dniach od chwili posadzenia roślin pojawiły się charakterystyczne objawy braku manganu: żółknięcia blaszki liściowej, która tylko wzdłuż wiązek naczyniowo-sitowych pozostawała zielona. Objawy te, przypominające „siateczkę" trwały u roślin kontrolnych przez cały czas doświadczenia. U roślin, którym mangan dano w późniejszych okresach (a więc przed kwitnieniem i w okresie zawiązywania owoców), objawy te. po wprowadzeniu manganu do pożywki, w przeciągu tygodnia prawie całkowicie zanikały, pozostając jedynie na częściach niektórych dolnych liści. Pozielenienie następowało najpierw u listków najmłodszych, potem stopniowo u coraz starszych i szło od nasady liścia ku wierzchołkowi (patrz ryc. 1).

Wobec spóźnionej pory rośliny ścięto, przed całkowitym wykształceniem owoców, dnia 10.X. Wyniki doświadczenia ujmuje wykres (ryc. 2). Na ich podstawie można stwierdzić:

1. W warunkach omawianego doświadczenia (silny niedobór Mn) wpływ manganu uwidocznił się najdobitniej na owocowaniu pomidorów. Najwyższe plony owoców uzyskano w serii, gdzie mangan był dany na początku wegetacji. Mangan wprowadzony do pożywki przed kwitnieniem dał plony owoców dużo niższe. Przy dawce Mn w okresie zawiązywania owoców, pomidory zupełnie się nie wykształciły (podobnie, jak i w kontroli Mn=O).

2. Wpływ manganu na plon suchej masy części wegetatywnych (łodygi i liście) był dużo mniejszy niż na plon owoców. O wysokości tego plonu decydowała zarówno dawka manganu wprowadzona do pożywki na początku wegetacji, jak i przed kwitnieniem.

3. Na zawartość kwasu askorbinowego w owocach w większym stopniu wpłynęła dawka manganu wprowadzona przed kwitnieniem niż na początku wegetacji.

Doświadczenie 2 z pomidorami w kulturach wodnych; rok 1954. W doświadczeniu uwzględniono osiem kombinacji wprowadzania lub wyłączania manganu z pożywki w różnych okresach rozwoju pomidorów



Ryc. 1. Objawy niedoboru manganu u pomidorów: *A* — listek pomidora dostatnio odżywionego manganem (intensywnie zielony); *B* — listek pomidora, który otrzymał mangan w pożywce przed kilkoma dniami: objawy niedoboru Mn zanikają, widoczne są jedynie na brzegach i wierzchołku listka; *C* — listek pomidora z typowymi objawami niedoboru manganu w postaci tzw. „siateczki"

(patrz tabl. 1). Doświadczenie założono w 1-litrowych słojach. Do kultur stosowano wodę dwukrotnie destylowaną z dodatkiem pożywki wg Olsena C. (1950). Skład pożywki na 1-litrowy słój: 0,84 g $Ca(NO_3)_2$, 0,50g $MgSO_4$, 0,12g KH_2PO_4, 0,75g KNO_3, 0,4mg H_3BO_3, 0,1mg $CuSO_4$, 0,2mg $ZuSO_4$, 0,05mg molibdenianiu amonu i 5 ml 1% roztworu cytrynianu żelazowego. Dla uzyskania odczynu pożywki powyżej pH 7 dodadano po 2g $CaCO_3$ na słój. Każda seria miała 6 powtórzeń. W każdym słoju rósł jeden pomidor odmiany „Karzełek Puławski". Kultury były co dzień przewietrzane, wodę w słojach uzupełniano w miarę potrzeby, mniej więcej co drugi dzień. W ciągu wegetacji całkowitą pożywkę mine-

Tabela 1

Żywienie pomidorów manganem w różnych okresach ich rozwoju
Doświadczenie 2 w kulturach wodnych, 1954 r.

Seria	Termin wprowadzenia manganu d pożywki				Owoce			Część nadziemna: liście i łodygi						Korzenie
	a 14.V.	*b* 9.VI.	*c* 2.VII	*d* 31.VII.	śr. plon z 1 krzaka g	śr. liczba z 1 krzaka szt.	zawart. kwasu askorbin. w świeżych owocach mg—%	średni plon suchej masy z 1 rośliny g	zawartość Mn w s.m. ppm	zawartość Mn w s.m. średnio w 1 roślinie γ	zawartość Fe w s.m. ppm	zawartość Fe w s.m. średnio w 1 roślinie γ	stosunek Fe: Mn	średni plon suchej masy z 1 rośliny g
I	—	—	—	—	126,6	4,4	15,0	6,66	90,0	599,4	352,5	2347,6	3,9:1	1,16
II	—	—	—	+	144,0	4,2	22,1	6,05	92,5	559,6	371,0	2244,5	4,0:1	1,13
III	—	—	+	+	128,8	3,6	19,7	6,35	125,0	793,7	283,5	1800,2	2,3:1	1,31
IV	—	+	+	+	**195,4**	**6,8**	24,5	**8'25**	240,0	1980,0	210,0	1732,5	0,9:1	**1,71**
V	—	+	+	+	172,8	4,8	23,7	7,54	307,5	2318,0	263,0	1983,2	0,9:1	**1,60**
VI	+	+	+	—	**230,4**	**7,2**	20,8	**9,54**	330,0	3148,0	242,5	2313,4	0,7:1	**1,56**
VII	+	+	—	—	179,0	6,0	19,1	**8,51**	257,5	2191,0	326,0	2774,3	1,3:1	**1,64**
VIII	+	—	—	—	177,8	4,2	20,1	**8,37**	145,0	1213,0	373,5	3126,2	2,6:1	**1,57**
Przedział ufności (5%) L. st. swob. 32					59,9	2,17		1,39						0,37

Objaśnienia:
a: pomidory w stadium 1-ych listków; *b* : stadium przed kwitnieniem; *c* : początek zawiązywania owoców; *d* : początek dojrzewania owoców;

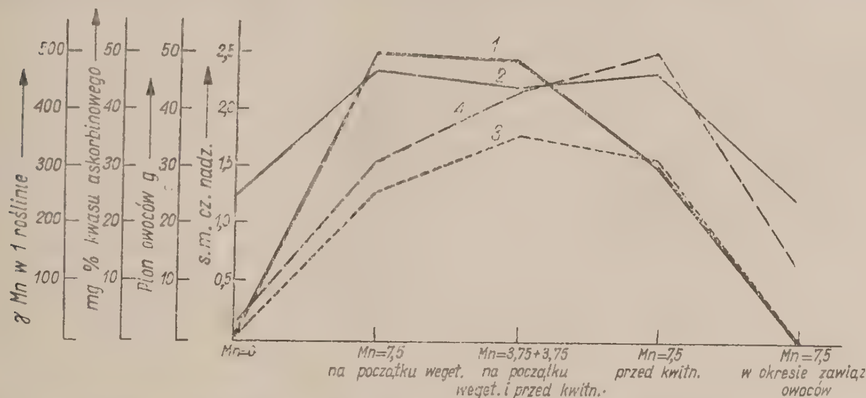
— : mangan wyłączony z pożywki;

\+ : mangan dany do pożywki w ilości 1 mg Mn /1 litr pożywki/ roślinę (dawka optymalna w warunkach kultur wodnych).

Liczby wyróżnione drukiem różnią się w sposób istotny od wyników serii I.

ralną czterokrotnie zmieniono. Owoce zbierano stopniowo w miarę dojrzewania.

U roślin, które na początku wegetacji nie otrzymały manganu (tzn. serie I, II, III i IV — patrz tab. 1), objawy braku tego mikroskładnika wystąpiły około 10 dnia od chwili założenia doświadczenia. Objawy te jednak ulegały czasami częściowemu zatarciu, widocznie przez dopływ do rośliny śladów manganu (z wody, pożywki czy naczyń). Gdy przy zmia-



Ryc. 2. Żywienie manganem w różnych okresach rozwoju pomidorów. Doświadczenie z pomidorami na piasku, 1952 r.

1 — średni plon św. masy w g; *2* — śr. plon suchej masy części nadziemnych w g; *3* — % kw. askrobiowego w owocach w mg; *4* — śr. zawartość Mn w roślinie w γ.

nie pożywki dodawano mangan tym roślinom, które go poprzednio nie miały, jego wpływ uwidoczniał się bardzo szybko, bo już na 3 dzień. Objawy niedoboru manganu znikały wówczas w sposób opisany przy doświadczeniu 1. Natomiast te rośliny, które na początku wegetacji dostały mangan, a później mikroskładnik ten wyłączono im z pożywki (serie VI, VII i VIII — patrz tab. 1), do końca okresu wegetacyjnego nie wykazały objawów niedoboru manganu. Byłoby to dowodem na przemieszczanie manganu ze starszych części rośliny, odżywionych manganem, do części młodych, które wyrosły na pożywce bezmanganowej.

Liczbowe wyniki doświadczenia podaje tabela 1. Można z niej wysnuć następujące wnioski:

1. Plon i ilość owoców pomidorów wzrósł znacznie pod wpływem manganu, ale tylko wtedy, gdy mikroelement ten był obecny w pożywce w okresie przed kwitnieniem i na początku zawiązywania owoców (termin b. i c.). Natomiast zawartość kwasu askorbinowego w owocach podniosła się również pod wpływem dawki Mn zastosowanej w czasie dojrzewania pomidorów (termin d).

2. Wydaje się, że o plonie suchej masy części wegetatywnych (liście

i łodygi oraz korzenie) w dużej mierze zadecydowała dawka manganu wprowadzona do pożywki od razu na początku wegetacji (termin a) lub przed kwitnieniem (termin b).

Przy omawianiu wyników doświadczenia 2 należałoby podkreślić dwie sprawy:

1. Rośliny z serii kontrolnej (seria I), które nie otrzymały manganu w pożywce, pobrały go, pomimo to, przeszło 600 γ na 1 roślinę *. Głównym źródłem tych zanieczyszczeń mogła być woda (mimo dwukrotnej destylacji), której rosnące przez 4 miesiące w kulturach wodnych pomidory zużywały znaczne ilości, bo średnio ok. 0,5 l dziennie na roślinę. Ślady manganu mogły przechodzić do wody z balonów, w których była ona przechowywana, lub ze słojów, w których rosły rośliny, a może i z odczynników chemicznych. Ten spory dopływ manganu do roślin, które miały być zupełnie pozbawione tego mikroskładnika, bez wątpienia zaciemnił obraz wpływu manganu na rozwój pomidorów.

2. Niezrozumiały jest fakt, że rośliny z serii V, tj. te, które otrzymywały mangan przez cały czas wegetacji, dały niższe plony niż pomidory z serii IV i VI, a także pobrały mniej manganu od roślin z serii VI (tab. 1).

W związku z pobieraniem manganu przez pomidory z omawianego doświadczenia nasuwają się następujące uwagi:

a. W początkowych stadiach rośliny pobierały więcej manganu niż w końcowych okresach wegetacji. Te rośliny, które dostały mangan na początku doświadczenia, pobrały go z pożywki w całości, natomiast te, które otrzymały mangan później, pobrały go tylko częściowo.

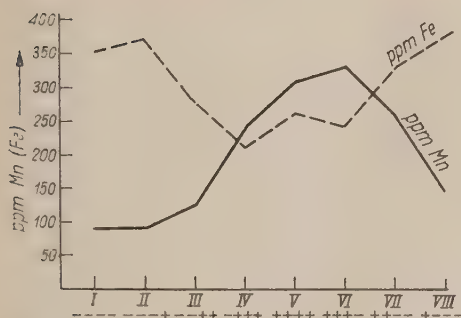
b. Rośliny, które zawierały więcej manganu, pobrały nieco mniej żelaza (patrz wykres na ryc. 3 i tab. 1). Przeciętnie jedna roślina zawierała 2-3 mg Fe. Ponieważ w ciągu całej wegetacji rośliny otrzymały w formie cytrynianu ok. 35 mg Fe, więc znaczyłoby to, że ogromna większość żelaza pozostała w pożywce. Stosunek Fe: Mn w roślinach, które dały najwyższy plon owoców, wynosił od 0,7:1 do 0,9:1. U roślin, które dały niższe plony, stosunek Fe: Mn był dużo szerszy. Należy jednak pamiętać, że stosunek Fe: Mn w tkance roślinnej prawdopodobnie ulegał zmianom w ciągu wegetacji na skutek włączania lub wyłączania manganu z pożywki (poziom żelaza w pożywce był stale taki sam).

c. Przy oznaczaniu zawartości manganu i żelaza usiłowano zbadać, czy składniki te są rozłożone w całej roślinie równomiernie. W tym celu analizowano rośliny w stadium kwitnienia **: osobno część wierzchołkową łodygi (wierzchołek pędu z młodymi, nie wyrośniętymi liśćmi i kwiatostanami), a osobno dolną część łodygi ze starszymi liśćmi. Wyniki przedsta-

* W tabeli 1 nie uwzględniono zawartości manganu w korzeniach i owocach.

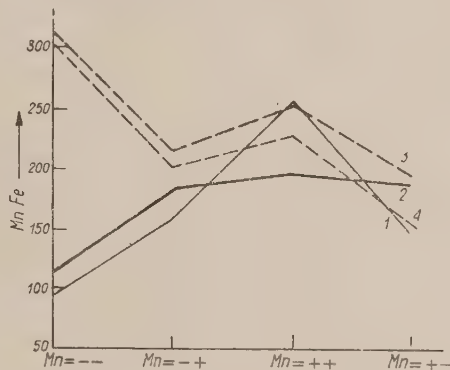
** Były to rośliny stanowiące rezerwę na wypadek, gdyby którąś z serii trzeba było uzupełnić.

wia wykres (ryc. 4). Rośliny, które w ogóle nie dostały manganu (seria Mn=--) zawierały go najmniej, przy czym w dolnej części zawartość ta była niższa niż w górnej. W serii Mn=—+, czyli tej, która dostała mangan dopiero przed kwitnieniem, oraz w serii Mn=+—, gdzie mangan był dany na początku wegetacji, a potem wycofany z pożywki, dolne części roślin zawierały mniej manganu niż górne. W serii Mn=++, która otrzymała mangan i na początku wegetacji i przed kwitnieniem, było przeciwnie: dolne piętra zawierały dużo więcej manganu niż górne. Na uwagę



Ryc. 3. Zawartość Mn i Fe w liściach i łodygach pomidorów żywionych manganem w różnych okresach rozwoju. Doświadczenie w kulturach wodnych 1954 r.

Na osi rzędnych cyfry rzymskie oznaczają poszczególne serie pomidorów żywionych manganem w różnych okresach rozwoju. Szczegółowe objaśnienia podane są w tabeli 1



Ryc. 4. Zawartość Mn i Fe w suchej masie liści i łodyg pomidorów będących w stadium kwitnienia. Doświadczenie w kulturach wodnych, 1954 r.

1 — Zawartość Mn w dolnych piętrach; 2 — Zawartość Mn w górnych piętrach; 3 — Zawartość Fe w górnych piętrach; 4 — Zawartość Fe w dolnych piętrach.

zasługuje, że w częściach górnych (z wyjątkiem serii Mn=——, silnie niedoborowej pod względem manganu) zawartości manganu były bardzo podobne.

Zawartość żelaza kształtowała się w tych roślinach jednakowo: młodsze części rośliny zawierały stale nieco więcej żelaza, niż dolne. Przy serii Mn=—— (silny niedobór Mn) względna zawartość żelaza była w roślinach najwyższa.

B. Funkcje fizjologiczne manganu, związane z procesem fotosyntezy u pomidorów

Wpływ manganu na proces fotosyntezy u pomidorów starano się zbadać w doświadczeniu 3 z 1956 roku i doświadczeniu 4 z 1957 roku. Nie mogąc przeprowadzić bezpośrednich pomiarów asymilacji CO_2 u roślin

doświadczalnych *, zagadnienie starano się rozwiązać na drodze pośredniej. W tym celu porównywano rośliny cierpiące na niedobór manganu z roślinami dostatnio odżywionymi tym mikroelementem, oznaczając w nich: zawartość cukrów, intensywność oddychania, aktywność katalazy, zawartość azotu amoniakalnego i azotanowego i in. Aby móc lepiej zaobserwować wpływ manganu na metabolizm pomidorów, usiłowano stworzyć tym roślinom zróżnicowane warunki asymilacji CO_2, zacieniając część roślin lub sztucznie wzbogacając w cukry przez dolistne dokarmianie sacharozą (o czym już wspomniano we wstępie).

METODYKA DOŚWIADCZEŃ

Doświadczenie 3 z 1956 roku. Plan doświadczenia przedstawia tabela 2. Do doświadczenia użyto doniczek o pojemności 3 kg piasku (płukanego w HCl). W każdej doniczce rosły 4 pomidory odmiany „Karzełek Puławski", przepikowane z piaskowego rozsadnika zaraz po skiełkowaniu. Każda seria miała 12 powtórzeń. Roślinom dano pełne nawożenie mineralne (bez manganu lub z optymalną dawką Mn = 7,5 mg/1 kg piasku, wg Olsena, 1950); przy zakładaniu doświadczenia rośliny otrzymały pełną dawkę pożywki, taką jak na 1 l roztworu kultur wodnych, a potem w ciągu wegetacji trzy razy po pół dawki. Piasek przed założeniem doświadczenia wymieszano z 4 g $CaCO_3$ w celu podniesienia odczynu do pH ok. 7,5. Rośliny podlewano 2-krotnie destylowaną wodą do 50% całk. pojemności wodnej piasku. Rośliny zacieniane nakrywano dużymi pudłami z kartonu w południe każdego dnia: od 13.VI do 17.VI — na przeciąg 1 godziny, od 18.VI do 2.VII — na 2 godziny, a od 3.VII do 1.IX — na 3 godziny. Dbano, by rośliny w czasie zacieniania miały odpowiedni dopływ powietrza. Doświadczenie założono 5.VI. W początkowym okresie zawiązywania owoców pobrano z roślin reprezentatywne próbki liści; oznaczano w nich zawartość cukrów, intensywność oddychania, aktywność katalazy oraz przeprowadzono analizę barwników chloroplastów. Owoce zebrano 1.IX, gdy były już wyrośnięte, ale jeszcze zielone. Powodem zebrania owoców w stanie zielonym było to, że do analiz obcięto sporą ilość liści, więc dojrzewanie owoców odbywałoby się i tak w niezbyt naturalnych warunkach.

Doświadczenie 4 z 1957 roku. W porównaniu do poprzedniego doświadczenia plan doświadczenia rozszerzono. Prócz serii zacienianych wprowadzono serie roślin dolistnie dokarmianych sacharozą (jakby przeciwstawność roślin zacienianych) oraz serie ze zwiększoną dawką molib-

---

* Z powodu braku odpowiedniej aparatury.

Tabela 2

Doświadczenie 3 z pomidorami na piasku w 1956 r.
(Wyniki po zakończeniu wegetacji)

Lp.	Seria	Plon świeżej masy średnio z 1 doniczki* g	Plon suchej masy śred. z 1 doniczki* g	% wody w świeżej masie	Mangan		Żelazo		Stosunek Fe : Mn	Azot ogólny	
					śred. zawart. w s.m. ppm	plon z 1 doniczki* γ	śred. zawart. w s.m. ppm	plon z 1 doniczki* γ		% w s.m.	Plon z 1 doniczki* mg
	I. Część nadziemna: liście i łodygi										
1	Mn = 0 nie zacieniane	39,3	7,34	82,75	80,0	587,6	196,9	1446,0	2,5:1	3,18	233,5
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane	66,5	11,62	83,88	235,0	2729,8	171,6	1993,5	0,7:1	2,06	239,3
3	Mn = 0 zacieniane	56,0	7,69	87,30	80,0	615,0	189,3	1455,3	2,4:1	3,22	247,5
4	Mn = 7,5 mg zacieniane	88,4	11,66	88,34	220,0	2622,6	154,0	1835,8	0,7:1	2,10	250,0
Przedział ufn. (5%) dla całości L. st. swob. 44			±1,268								
Przedział ufn. (5%) dla nawoż. Mn (i dla zacien.)			±0,896								
	II. Korzenie										
1	Mn = 0 nie zacieniane		1,10		75,0	82,3	285,0	312,9	3,8:1	1,92	21,1
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane		2,61		210,0	549,1	254,0	664,2	1,2:1	1,28	33,5
3	Mn = 0 zacieniane		1,55		87,5	135,3	316,8	489,8	3,6:1	1,55	24,0
4	Mn = 7,5 zacieniane		2,96		215,0	635,3	265,3	783,9	1,2:1	1,15	34,0
Przedział ufn. (5%) dla całości L. st. swob. 44			±0,344								
Przedział ufn. (5%) dla nawoż. Mn (i dla zacien.)			±0,243								
	III. Owoce									Średnia liczba owoców szt.	
1	Mn = 0 nie zacieniane	24,34	1,78	92,70	90,0	159,9	147,2	261,5	1,6:1	3,3	
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane	79,01	6,24	92,10	87,5	546,2	85,3	532,4	1,0:1	6,8	
3	Mn = 0 zacieniane	5,21	0,41	92,07	130,0**	53,7	198,8	82,1	1,5:1	1,7	
4	Mn = 7,5 mg zacieniane	49,02	3,92	92,00	80,0	313,7	75,9	297,6	1,0:1	4,7	
Przedział ufn. (5%) dla całości L. st. swob. 44			±3,049								
Przedział ufn. (5%) dla nawoż. Mn (i dla zacien.)			±2,156								

* W jednej doniczce rosły 4 rośliny.
** Wynik niepewny — próbka mała, brak powtórzenia.

Tabela 3

Doświadczenie 3 z pomidorami na piasku, 1956 r.
Wyniki analiz przeprowadzonych w świeżych liściach i świeżych owocach

Lp.	Seria	Liście				Owoce			
		zawart. cukrów* reduk. w śwież. liściach	intens. oddych. µl O_2 pobranego. przez 60 min.	zawart. katalazy		zawartość cukrów redukujących w świeżej masie		zawartość kwasu l-askorbinowego w świeżej masie	
				początek zawiązyw. owoców 1.VIII	okres zawiązyw. owoców 25.VIII				
		% glukozy		µl O_2 wydzielonego po 4 min.		% glukozy	plon z 1 doniczki** mg	mg—%	plon z 1 doniczki** mg
1	Mn = 0 nie zacieniane	0,13	104,1	156,0	120,3	1,93	469,8	16,65	4,0
2	Mn = 7,5 mg nie zacieniane	0,50	50,3	130,9	90,6	2,45	1935,7	19,35	15,3
3	Mn = 0 zacieniane	<0,09	74,8	126,2	89,8	1,88	97,9	2,70	0,15
4	Mn = 7,5 mg zacien.	0,21	52,9	75,2	52,1	2,38	1166,6	13,05	6,39

* Cukrów ulegających łatwo hydrolizie nie wykryto.
** W 1 doniczce rosły 4 pomidory.

Tabela 4

Wyniki doświadczenia 4 wazonowego z pomidorami na piasku, 1957 r.

I. Okres kwitnienia

Lp.	Seria	Liście i łodygi												Korzenie
		śr. plon pow. s.m. z 1 doniczki*	intensyw. oddychania	zawartość cukrów		zawartość Mn w s.m.		zawartość N w s.m.						śr. plon pow. s.m. z 1 doniczki*
			w świeżych liściach					ogółem		N/NH$_4$***		N/NO$_3$		
			µl O_2 po 60 min.	glukozy %	sacharozy %	ppm	Plon Mn z 1 doniczki* γ	%	mg**	%	mg**	%	mg**	
1	Mn = 0 nie zacieniane	4,87	128,1	1,12	0,28	60	309	2,35	121	2,31	119	0,04	2,1	2,37
2	Mn = 0 zacieniane	4,10		0,63	0,07	60	221	3,31	122	2,33	86	0,98	36,2	1,18
3	Mn = 0, nie zacieniane + sacharoza (dolistnie)	6,76		0,94	0,22	55	335	2,40	146	2,39	146	0,01	0,6	2,42
4	Mn = 0, nie zacieniane + zwiększona dawka Mo	6,19		0,93	0,08	60	334	2,74	153	2,54	141	0,20	11,1	2,00
5	Mn = 7,5 mg/1 kg piasku, nie zacieniane	7,94	88,4	2,06	0,32	407,5	2914	1,73	124	1,73	124	0	0	3,07
6	Mn = 7,5 mg/1 kg piasku, zacieniane	5,74		1,52	0,09	392,5	2029	2,38	123	2,35	121	0,03	1,5	2,00
7	Mn = 7,5 mg/1 kg nie zacien. + + sacharoza	8,24		2,07	0,13	350,0	2449	1,87	154	1,91	142	0	0	3,35
8	Mn = 7,5 mg/1 kg nie zacien. + + zwiększona dawka Mo	8,58		1,87	0,29	355,0	2741	2,02	156	1,98	153	0,04	3,1	3,67
	Przedział ufności (5%) dla całości	0,972												0,658
	Przedział ufności (5%) dla nawoż. Mn	0,485												0,329
	Przedział ufności (5%) dla serii	0,686												0,465

* W doniczce rosło 4 rośliny.
** Plon N z 1 doniczki.
*** N/NH$_4$ jest symbolem azotu zredukowanego

Tabela 5

Wyniki doświadczenia wazonowego 4 z pomidorami na piasku, 1957 r.

II. Okres owocowania

Lp.	Seria	Owoce							
		śr. plon świeżej masy	śr. liczba owoców*	zawartość cukrów				zawartość kwasu askorbinowego mg-% świeżej masy	
				glukozy		sacharozy			
		g	szt.	%	mg*	%	mg*	14.IX	9.X
1	Mn = 0 nie zacieniane	187,60	6,8	3,64	6828	0,12	225	27,9	34,7
2	Mn = 0 zacieniane	139,80	4,4	2,82	3942	0,14	196	23,4	26,1
3	Mn = 0 nie zac. + sacharoza	210,75	7,3	3,45	7270	0,10	211	24,7	27,9
4	Mn = 0 nie zac. + zwięk. daw. Mo	216,40	7,6	3,69	7985	0,17	368	25,2	32,4
5	Mn = 7,5 mg nie zacieniane	213,20	9,0	4,75	10127	0,17	362	30,6	35,1
6	Mn = 7,5 mg zacieniane	195,80	6,0	3,91	7656	0,96**	1880**	26,6	27,1
7	Mn = 7,5 mg nie zac. + sacharoza	219,20	8,0	4,60	10083	0,11	241	26,1	36,1
8	Mn = 7,5 mg nie zac. + zwięk. daw. Mo	186,0	6,4	4,60	8593	0,14	261	32,0	37,8
Przedział ufn. (5%) dla całości		±36,90							
Przedział ufn. (5%) dla serii		±26,10							

* Przeliczenie na plon z 1 doniczki (4 rośliny).

** Wynik niepewny — brak powtórzenia.

denu — mikroelementu biorącego udział w redukcji azotanów, a więc pośrednio przyczyniającego się do sprawniejszego „odbioru" produktów asymilacji CO_2, wykorzystywanych przy syntezie związków azotowych. Plan doświadczenia przedstawiony jest w tabeli 4. Serie II i VI zacieniano 3 razy tygodniowo od godziny 8 do 19, a nie, jak w 1956, każdego dnia przez 2—3 godziny w południe. Pomidory dokarmiane dolistnie opryskiwano przy pomocy małego rozpylacza 3 razy tygodniowo wodnym roztworem sacharozy o stężeniu 1% (na początku wegetacji), potem 2%, a w końcu (w okresie kwitnienia) — 3%. Zwracano uwagę, by roztwór cukru nie dostał się do piasku. W seriach ze zwiększoną dawką molibdenu mikroelement ten podawano stopniowo; w sumie rośliny otrzymały 1,1 mg molibdedianu amonu na 1 doniczkę (normalna dawka wynosiła 0,05 mg). Doświadczenie założono 25.V. Każda seria miała 8 powtórzeń, z których 3 sprzątnięto w okresie kwitnienia, a 5 pozostawiono do całkowitego dojrzenia owoców. Owoce zbierano stopniowo; koniec zbiorów przypadł 10.X; w innych szczegółach metodycznych doświadczenie było tak samo prowadzone, jak w roku 1956.

OBSERWACJE W CZASIE WEGETACJI

1. W seriach kontrolnych (Mn=O) objawy niedoboru manganu wystąpiły na 9—10 dzień po posadzeniu roślin i wprowadzeniu pożywki. Objawy te utrzymywały się w obu doświadczeniach przez cały czas wegetacji, ale okresowo ulegały częściowemu zatarciu, szczególnie na listkach najmłodszych. Świadczyło to o dopływie śladów manganu do rośliny.

2. Rośliny zacieniane miały dużo jaśniejszą zieleń niż rośliny nie zacieniane, były od nich wyższe i miały większe blaszki liściowe (przy tej samej ilości liści). U roślin tych, przy Mn=O wystąpiły nieco silniejsze objawy niedoboru manganu niż u roślin nie zacienianych. U roślin zacienianych nie zaobserwowano zwijania się dolnych liści — cechy odmianowej „Karzełka Puławskiego". Zakwitały one kilka dni później niż nie zacieniane.

3. Rośliny dolistnie dokarmiane sacharozą (doświadczenie 4) były niższe od roślin nie opryskiwanych cukrem i miały ciemniejszą zieleń. W późniejszym okresie na ich liściach pojawił się w większej ilości mączniak, co prawdopodobnie obniżyło korzystny efekt stosowania sacharozy, widoczny w 1 okresie.

WYNIKI

Wyniki liczbowe doświadczeń 3 i 4 przedstawiają tabele 2, 3, 4 i 5. Można z nich wyciągnąć następujące wnioski:

1. W obydwu doświadczeniach nawożenie manganem wpłynęło w istotny sposób na plon suchej masy części wegetatywnych (łodygi, liście i korzenie).

2. Plon owoców w doświadczeniu 3 zdecydowanie się zwiększył pod wpływem nawożenia manganem. W doświadczeniu 4, gdzie był mniej ostry niedobór Mn, różnice były istotne jedynie w seriach zacienianych.

3. Zacienianie w doświadczeniu 3 nie wpłynęło ujemnie na plon suchej masy części wegetatywnych, natomiast w doświadczeniu 4 obniżyło plony i części nadziemnych i korzeni. W obydwóch doświadczeniach zacienianie odbiło się wyraźnie na owocowaniu; u roślin kontrolnych (Mn=O) zacienianie to w dużo większym stopniu obniżyło plony owoców, niż u roślin dostatnio zaopatrzonych w mangan.

4. Dolistne dokarmianie sacharozą (dośw. 4) podniosło w okresie kwitnienia plon suchej masy części nadziemnych znacznie więcej u roślin niedoborowych niż dostatnio zaopatrzonych w mangan. Zwyżka w plonie owoców była niewielka.

5. Zwiększona dawka molibdenu (dośw. 4) korzystniej podziałała na plony roślin w serii Mn=O niż w serii Mn=7,5mg.

6. W obydwu doświadczeniach pomidory z serii Mn=O pobrały z zanieczyszczeń wykrywalne ilości manganu. Jest to jeszcze jednym dowodem, jak niezmiernie trudno, mimo dużych ostrożności, otrzymać roślinę, która by wyrosła w absolutnie „bezmanganowych“ warunkach. Pomidory, które otrzymały 7,5 mg Mn na 1 kg piasku, zawierały kilkakrotnie więcej manganu, niż rośliny niedoborowe.

7. W doświadczeniu 3 względna zawartość Fe była wyższa we wszystkich częściach roślin przy Mn=O niż przy Mn=7,5 mg. Ponieważ jednak rośliny nawożone manganem dały dużo wyższe plony suchej masy, w sumie każda roślina z serii Mn=7,5 mg pobrała więcej żelaza niż rośliny „bezmanganowe“.

8. W doświadczeniu 3 stosunek Fe:Mn u pomidorów zaopatrzonych w mangan wahał się od 0,7:1 do 1,2:1. Przy Mn=O stosunek ten był szerszy, bo od 1,5:1 (w owocach), do 3,8:1 (w korzeniach). Na uwagę zasługuje fakt, że w owocach stosunek Fe:Mn u roślin zaopatrzonych w mangan i u roślin „niedoborowych“ był bardziej zbliżony niż w innych częściach rośliny.

9. W obu doświadczeniach procentowa zawartość ogólnego azotu była wyższa w seriach Mn=O niż w seriach Mn=7,5 mg, jednak w przeliczeniu na plon, rośliny pobrały w sumie niemal identyczne ilości mg N. Pomidory opryskiwane sacharozą oraz pomidory ze zwiększoną dawką molibdenu (dośw. 4) pobrały na doniczkę o około 30 mg N więcej niż serie kontrolne.

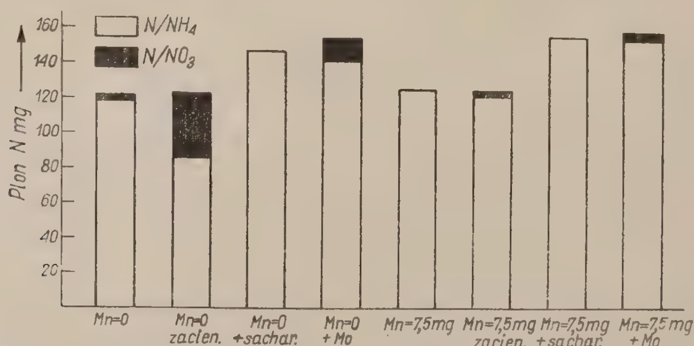
10. Zawartość azotu azotanowego w roślinach (dośw. 4) była na ogół bardzo niewielka. Wyróżniła się jedynie seria 2 (Mn=O, rośliny zacieniane), gdzie około 30% azotu pobranego przez pomidory pozostało w formie nie zredukowanej. Stosunki azotowe w roślinach z omawianego doświadczenia przedstawia wykres na rycinie 5.

11. W obydwóch doświadczeniach u pomidorów zaopatrzonych w mangan stwierdzono dużo wyższą zawartość cukrów w liściach i owocach niż u roślin niedoborowych. Różnice te były szczególnie kontrastowe w seriach zacienianych.

12. W obydwóch doświadczeniach stwierdzono przy Mn=O bardziej intensywne oddychanie i większą aktywność katalazy niż w liściach z serii Mn=7,5 mg.

13. W obydwóch doświadczeniach zawartość kwasu askorbinowego w owocach pomidorów w pewnym stopniu wzrosła pod wpływem manganu.

W doświadczeniu 3 usiłowano zbadać, czy są różnice w składzie barwników chloroplastów w zależności od tego, czy liść jest normalnie zielony



Ryc. 5. Plon azotu w liściach i łodygach pomidorów (z 1 wazonu). Doświadczenie wazonowe na piasku z 1957 r. Okres kwitnienia pomidorów

czy posiada typowe objawy niedoboru manganu. Wyciągi alkoholowe sumy chlorofilów z liścia niedoborowego miały zielonawożółtą barwę, a z liści zaopatrzonych w mangan — zabarwienie wyraźnie zielone. Przy analizie chromotograficznej nie uchwycono jednak różnic w stosunkach ilościowych poszczególnych barwników chloroplastów.

III. DYSKUSJA

Autorka przeprowadziła doświadczenia z pomidorami w warunkach silnego niedoboru manganu, ujawniającego się występowaniem typowych zmian w zabarwieniu liści (w postaci tzw. „siateczki"). W takich warunkach mangan, wprowadzony świeżo do pożywki lub pocho-

dzący ze „śladów", skierowany był przede wszystkim do wierzchołków wzrostu i najmłodszych, rosnących liści, a w dalszej dopiero kolejności do liści coraz starszych. Z drugiej strony u pomidorów rosnących w kulturach wodnych (dośw. 2), którym na początku wegetacji dano mangan, a potem wycofano go z pożywki, objawy niedoboru manganu do końca wegetacji nie wystąpiły; znaczy to, że mangan przechodził ze starszych części rośliny do części młodszych, rosnących już na pożywce bezmanganowej. Te dwa fakty wskazywałyby, że w roślinie istnieje system regulujący rozmieszczenie manganu i zapewniający jego możliwie równomierny dopływ do części najmłodszych, intensywnie rosnących oraz organów generatywnych. Słuszność tego przypuszczenia potwierdzałyby analizy chemiczne na zawartość manganu (patrz wykres, ryc. 4). Wykazały one, że górne piętra roślin (wierzchołek pędu z młodymi liśćmi i kwiatostanami) zawierały dość podobne ilości manganu, niezależnie od tego, czy były dostatnio zaopatrzone w mangan (seria Mn=++), czy też posiadały pewien jego niedobór (serie Mn=+— i Mn=—+). Ten równomierny dopływ manganu do najmłodszych części rośliny musiał się odbywać kosztem dolnych pięter, które w przypadku niedoboru manganu zawierały mniej manganu niż górne piętra, a przy dobrym zaopatrzeniu w Mn stawały się, jak gdyby magazynem jego zbędnych „nadwyżek". Podobny wniosek można by wysunąć na podstawie doświadczenia 3 (patrz tab. 2), gdzie zawartość manganu w owocach pomidorów była prawie taka sama, niezależnie od poziomu Mn w liściach i łodygach.

Wniosek autorki o przechodzeniu manganu ze starszych części roślin do młodszych nie pokrywałby się z wynikami Rucka H. C. i Gregory F. G. (1955), którzy w doświadczeniach z ziemniakami wykazali, że mangan i magnez, w przeciwieństwie do potasu, są w tkance roślinnej prawie nieruchome. Romney E. i Toth S. (1954) przy pomocy izotopu Mn^{54} badali pobieranie i rozmieszczanie manganu w roślinach. Stwierdzili oni, że wyrośnięte liście gryki, soi i słonecznika gromadziły więcej izotopu Mn^{54} niż młode liście. Częściowo pokrywałoby się to z wynikami doświadczeń autorki, w których pomidory miały manganu pod dostatkiem i pewne jego nadwyżki pozostawały w liściach dolnych. Romney i Toth nie wspominają, by badali rozmieszczenie manganu u roślin niedoborowych, co autorka miała możność obserwować w swoich doświadczeniach. Z drugiej strony autorzy ci stwierdzają, że gdy zwilżali liście pomidora i soi roztworem Mn^{54}, izotop ten był wchłaniany i rozprowadzany przez roślinę, przy czym więcej izotopu Mn^{54} wędrowało w górę, do miejsc intensywnego wzrostu, niż w dół.

Dla rośliny ważne jest nie tylko, czy otrzyma mangan i w jakiej ilości, ale także i to, kiedy go otrzyma. Doświadczenie autorki przeprowadzone w kulturach wodnych (dośw. 2) wskazywałoby, że produkcja owoców po-

midorów zależy od dostatecznego dopływu manganu w okresie przed kwitnieniem, a nawet i w okresie zawiązywania owoców (tab. 1). Natomiast z doświadczenia 1 wynika, że dawka manganu zastosowana przed kwitnieniem nie przyniosła jeszcze obniżki w plonie części wegetatywnych, ale dla produkcji owoców była już spóźniona (patrz wykres, ryc. 2). Tę pozorną rozbieżność wytłumaczyć można tym, że doświadczenie 1 prowadzone było w warunkach silniejszego niedoboru manganu, niż doświadczenie 2 w kulturach wodnych *. W obu doświadczeniach uzyskano zgodny wynik, że na zawartość kwasu askorbinowego w pomidorach korzystnie oddziaływa dopływ manganu w okresach późniejszych, nawet jeszcze w okresie dojrzewania owoców.

składników.

Termin, w którym roślina powinna otrzymać mangan, wiąże się z szybkością jego pobierania. Z doświadczenia 2 wynika, że w pierwszych okresach przed kwitnieniem, pomidory pobrały największe ilości manganu. W okresie dojrzewania owoców tempo pobierania tego mikroelementu było już minimalne. Nasuwa się stąd uogólnienie, że pobieranie manganu przez rośliny ma charakter podobny do pobierania innych mineralnych

W badaniach swych autorka zwróciła uwagę na stosunek Fe: Mn w roślinie doświadczalnej. Stwierdziła ona, że pomidory, które zawierały mniej manganu, posiadały wyższy poziom żelaza w swych tkankach (patrz wykres na ryc. 3). Pokrywałoby się to z wynikami Romney i Totha (1954), którzy w jednym ze swych doświadczeń stwierdzili, że przy $Mn=0$ znacznie wzrosła ilość Fe^{59} w liściach i łodygach soi. Przeciwnie — nawet nieznaczny dodatek manganu do pożywki wywołał zmniejszenie ilości Fe^{59} w tej roślinie. Trudno jeszcze wytłumaczyć, na czym to zjawisko polega. W doświadczeniach autorki niski poziom Mn, a wysoki poziom Fe u pomidorów wykazujących objawy niedoboru manganu sprawiły, że w roślinach tych stosunek Fe:Mn był dosyć szeroki, bo od 2,5:1 do 3,2:1. U pomidorów dostatnio zaopatrzonych w mangan stosunek Fe:Mn wahał się około 1:1. Stosunek ten nigdy nie wyniósł 2:1, jak to stwierdzili dla soi Somers i Shive (1942), mimo, że np. w doświadczeniu 2 w kulturach wodnych pożywka zawierała około 9 razy więcej żelaza niż manganu. Utrzymywanie się w roślinie stosunku Fe:Mn=1:1 mimo woli nasuwa na myśl hipotezę Gerretsena (1949. 1950). W myśl tej hipotezy przy fotolizie wody jon Mn^{+++} odbiera elektron od jonu OH^-, a jon Fe^{++} jest dawcą elektronu jonowi H^+. Stosunek Fe:Mn=1:1 byłby więc

* Jedna roślina z serii kontrolnej (Mn=0) pobrała z zanieczyszczeń: w doświadczeniu wazonowym 1 — 30γMn, a w doświadczeniu 2 w kulturach wodnych — 600γMn.

korzystny dla równowagi fotosyntetycznego aparatu. Podkreślić jednak należy, że hipoteza Gerretsena nie została jeszcze sprawdzona. Badania Kesslera (1957) wykazały, że mangan jest rzeczywiście czynny przy przemianach jonu OH— (w formę nadtlenku), jednak przypuszczenia Gerretsena o udziale żelaza w fotolizie wody nie znalazły jeszcze potwierdzenia. Z drugiej strony należy pamiętać, że stosunek Fe:Mn w roślinie odgrywa rolę nie tylko przy fotosyntezie, ale i przy wielu innych reakcjach oksydo-redukcyjnych (o czym będzie mowa dalej).

W doświadczeniach swych autorka usiłowała zbadać, jak wpływa żywienie manganem na proces fotosyntezy u pomidorów. W doświadczeniu 3 (patrz tab. 3) autorka stwierdziła zasadnicze różnice w zawartości cukrów redukujących: przy niedoborze manganu było ich dużo mniej niż w liściach pomidorów zaopatrzonych w mangan. Fakt ten pokrywa się z wynikami wielu autorów, którzy wykazali korzystny wpływ manganu na syntezę i zawartość cukrów w roślinach (Mc Harque J. S. 1926, cyt. Mulder i Gerrestsen 1952; Etlinge 1941; Własiuk 1941, 1945, Szkolnik i in. 1947, cyt. Maksimow, 1954; Maksimow i Chroboczek 1954 i in.). Przeprowadzone jednak przez autorkę pomiary intensywności oddychania liści wykazały, że jest ono dużo silniejsze przy Mn=0 niż przy Mn=7,5 mg (tabl. 3). Zachodzi więc pytanie: czy przy niedoborze manganu jest słabsza asymilacja CO_2 (czego dowodem byłaby obniżona zawartość cukrów), czy też bardziej intensywne procesy oddychania powodują szybsze spalanie wyprodukowanych już asymilatów? Porównując różnice względne widzimy, że u roślin „bezmanganowych" zawartość cukrów w liściach, a szczególnie w owocach, była kilkakrotnie niższa niż u roślin zaopatrzonych w mangan, natomiast różnice w intensywności oddychania były najwyżej dwukrotne (tab. 3). Wydaje się słuszne przypuszczenie, że tak duże różnice w zawartości cukrów nie mogły powstać jedynie na skutek silniejszego spalania produktów asymilacji w seriach Mn=0. To samo potwierdza wynik doświadczenia 4 (tab. 4 i 5), z tym, że różnice w zawartości cukrów są mniej kontrastowe, zapewne w związku z mniej ostrym niedoborem Mn u roślin „bezmanganowych".

W poszukiwaniu dalszych dowodów na udział manganu w fizjologicznych procesach autorka analizowała pomidory na zawartość azotu. W pożywce, którą stosowano do doświadczeń, rośliny te otrzymywały obfite nawożenie azotowe w formie wyłącznie azotanowej. Wyniki, jakie autorka otrzymała (patrz wykres na ryc. 5), wskazywałyby, że pobieranie azotu przez pomidory było niezależne od poziomu manganu w tej roślinie i że prawie cały azot znajdował się w formie zredukowanej. Wyróżniła się tu jedynie seria roślin zacienianych bez manganu, w których około 30% N

pozostało w formie azotanowej * Gdyby i w serii Mn=0, nie zacienianej, rośliny zawierały takie duże ilości azotanów, mogłoby to być dowodem, że mangan, zgodnie z przypuszczeniami wielu autorów bierze udział wraz molibdenem w redukcji azotu azotanowego. Jednak w serii Mn=0, nie zacienianej, były minimalne ilości azotanów (podobnie, jak i w seriach zaopatrzonych w mangan). Wobec tego nagromadzenie się azotu azotanowego u roślin „bezmanganowych" zacienianych świadczyłoby, że w tych warunkach rośliny posiadały szczególnie mało produktów asymilacji CO_2 i nie mogły wykorzystać pobranego z pożywki mineralnego azotu. W przeciwieństwie do zacieniania, sacharoza stosowana dolistnie na rośliny „bezmanganowe" zmniejszyła zawartość azotanów do śladów; prócz tego u roślin z tej serii podniósł się ogólny plon N w roślinie i był prawie taki sam, jak w analogicznej serii z manganem.

Wyższa zawartość N oraz obecność pewnych ilości azotanów w roślinach przy zwiększonej dawce molibdenu (patrz wykres na ryc. 5) świadczyłyby, że rola tego mikroelementu nie ogranicza się do redukcji azotu azotanowego, ale że molibden przyczynił się do ogólnego zwiększenia pobierania azotu. Ponieważ w serii Mn=0 znów część N (większa niż przy Mn=7,5 mg) pozostała w formie azotanów, wynikałoby, że i tu rośliny bezmanganowe nie mogły nadążyć w dostarczaniu produktów asymilacji CO_2.

Mówiąc o wpływie zacieniania na rozwój pomidorów należy podkreślić, że wpłynęło ono w bardziej destruktywny sposób na rośliny „bezmanganowe" niż na rośliny dostatnio zaopatrzone w mangan. Szczególnie silnie odbiło się to na produkcji owoców i ilości zamagazynowanych w nich cukrów i witaminy C. Przeciwnie — opryskiwania liści sacharozą, a także zwiększona dawka molibdenu, wywołały względnie większą zwyżkę plonu suchej masy i plonu owoców u roślin z serii Mn=0 niż u roślin z serii Mn=7,5 mg. Fakty te świadczyłyby, że przy niedoborze manganu jest silnie zachwiana równowaga aparatu fotosyntetycznego, co odbija się na produkcji cukrów, a w dalszej kolejności na gospodarce azotowej, witaminowej czy in. Czy jednak mangan jest specyficznym składnikiem aparatu fotosyntetycznego i bierze czynny udział w fotolizie wody, jak sądzi Gerretsen, Pirson, Kessler oraz inni, o tym na podstawie przedstawionych tu badań rozstrzygnąć nie można.

Wydaje się jednak rzeczą pewną, że jeśli nawet mangan bierze bezpośredni udział w asymilacji CO_2, nie jest to jego jedyną funkcją fizjologiczną. jaką pełni w roślinie. Pamiętajmy, że typowymi objawami niedoboru manganu są zmiany w zabarwieniu liści (tzw. „siateczka"); na czym

* Nagromadzenie się azotanów u roślin cierpiących na brak manganu zaobserwował również u owsa i traw Loeper G. W. (1941 cyt. Mulder i Gerresten 1952).

te zmiany polegają, nie jest dotychczas dostatecznie wyjaśnione, ale bezsprzecznie muszą się one ujemnie odbijać na fotosyntezie. Podobnie i wpływ manganu na produkcję owoców u pomidorów mógłby być tylko częściowo wytłumaczony jego udziałem w asymilacji CO_2. Być może, że między stopniem zaopatrzenia rośliny w Mn a jej generatywnym rozwojem istnieje jakaś bardziej istotna zależność.

Wpływ manganu na intensywność oddychania, jaki autorka stwierdziła u pomidorów, można prawdopodobnie tłumaczyć udziałem manganu w cyklu przemian kwasów trójkarboksylowych, jak to wykazali Ochoa S., Vennesland B. i in. (cyt. Mulder i Gerresten 1952). Aktywność katalazy, czyli enzymu zawierającego żelazo, wiąże się przypuszczalnie ze stosunkiem Fe:Mn w roślinach. Do tego wniosku doszli w każdym razie Weinstein L. W i Robbins W. R. (1955). Badali oni aktywność katalazy i oksydazy cytrochromowej u słonecznika i stwierdzili słabszą aktywność tych enzymów zarówno w przypadku niskiego poziomu Fe w pożywce, jak i wysokiego poziomu Mn. Uogólniając, można by powiedzieć, że zwiększona intensywność oddychania liści pomidorów a także zwiększona aktywność katalazy u roślin cierpiących na niedobór manganu, wskazuje na ogólne zachwianie równowagi procesów oksydo-redukcyjnych w roślinie *. Wykładnikiem tej równowagi jest — być może — stosunek Fe:Mn w tkankach roślinnych, jak to już sugerował w swoim czasie E. Hopkins i in. (1944, cyt. Mulder i Gerresten, 1952).

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Autorka przedstawia wyniki swych doświadczeń, przeprowadzonych metodą wazonową i metodą kultur wodnych w latach 1952—1957, z pomidorem jako rośliną doświadczalną. Głównym celem pracy było badanie fizjologicznych funkcji manganu, związanych z procesem fotosyntezy w tej roślinie.

I. Badając gospodarkę manganową w roślinie, autorka stwierdziła, że:

1. Mangan jest kierowany przede wszystkim do stref intensywnego wzrostu. W przypadku niedoboru manganu składnik ten przemieszcza się ze starszych części rośliny do młodszych, intensywnie rosnących.

2. Niedobór manganu wpływa najbardziej destruktywnie na rozwój pomidora w pierwszych stadiach rozwojowych tej rośliny, tj. do okresu przed kwitnieniem. W okresie tym, przy dostatecznym zaopatrzeniu w mangan, tempo pobierania manganu z pożywki jest wtedy najszybsze.

* Na niezbędność manganu w utrzymaniu odpowiedniej równowagi redox w roślinie zwracało uwagę wielu autorów, jak Lundegård H. (1939), McElroy i Nason A. (1954) i in.

Dla produkcji owoców pomidorów, w warunkach mniej ostrego niedoboru Mn, ważny był jednak dodatek manganu do pożywki i na początku zawiązywania owoców. Zawartość kwasu askorbinowego w owocach wzrosła jeszcze pod wpływem dawki manganu wprowadzonej w okresie dojrzewania pomidorów.

3. Rośliny zawierające mniej manganu pobierały, w przeliczeniu na 1 g suchej masy, więcej żelaza, niż rośliny lepiej zaopatrzone w mangan.

4. U pomidorów dostatnio zaopatrzonych w mangan stosunek Fe:Mn w liściach i łodygach utrzymywał się na poziomie 1:1. U roślin wykazujących wyraźne objawy niedoboru manganu stosunek ten wahał się od 2,5:1 do 3,2:1.

II. Badając pośrednią drogą udział manganu w fotosyntezie autorka stwierdziła, że w przypadku niedoboru manganu następuje w roślinie silne zachwianie równowagi aparatu fotosyntetycznego. Wniosek ten autorka oparła na następujących faktach:

1. Pomidory wykazujące typowe objawy niedoboru manganu posiadały w liściach i owocach dużo niższą zawartość cukrów niż rośliny zaopatrzone w mangan.

2. U roślin niedoborowych pod względem manganu, przy ich zacienieniu, występowało nagromadzenie w liściach i łodygach znacznych ilości azotanów.

3. Zacienianie wpłynęło w bardzo destruktywny sposób na ogólny rozwój roślin z niedoborem manganu, niż roślin dostatnio zaopatrzonych w mangan. Przeciwnie — dolistne dokarmianie sacharozą podziałało korzystniej na rośliny pozbawione manganu.

III. Prawdopodobny udział manganu w fotosyntezie nie jest jego jedyną funkcją fizjologiczną:

1. brak manganu odbijał się w wybitnym stopniu na rozwoju generatywnym pomidorów;

2. stwierdzenie intensywniejszego oddychania, a także zwiększonej aktywności katalazy w liściach pomidorów wykazujących typowe objawy niedoboru manganu, świadczyłoby o zachwianiu ogólnej równowagi oksydo-redukcyjnej w roślinie.

Przedstawione tu badania nad udziałem manganu w fotosyntezie mają charakter wstępny i będą kontynuowane.

Temat pracy autorka otrzymała od pani prof. dr Anny Nowotny-Mieczyńskiej. Za najwyższe zainteresowanie, jakie stale okazywała tym badaniom, autorka składa Jej serdeczne podziękowanie.

Pracownia Fizjologii Żywienia Roślin
Instytutu Uprawy i Nawożenia Gleb
w Puławach
Kierownik: prof. dr Anna Nowotny-Mieczyńska

(Wpłynęło dn. 14.3.1960)

SUMMARY

Four pot and water-culture experiments were performed with tomato plants in the green house in the years 1952—1957.

I. The author investigated the manganese metabolism in tomato plants. It was established, that:

1. Manganese was transported first of all to the youngest parts of the plant. In the Mn-deficient conditions the manganese was translocated from the older leaves to the younger ones.

2. The Mn-deficiency influenced most destructively the young tomato plants before their blooming period. The yield of the tomato fruits depended, however, on the Mn-supply during the fruit formation. The ascorbic acid content increased in the tomato fruits still under the Mn-supply during period of the fruits ripening.

3. The low Mn-level plants contained more iron, than the high Mn-level ones.

4. The Fe:Mn ratio, in the tomato plants with a sufficient supply of manganese, amounted 1:1. In the Mn-deficient plants it oscillated between 2,5:1 — 3,2:1.

II. The author intended to investigate the role of the manganese in the photosynthetic process. She found in an indirect way a strong disturbance in normal photosynthetic process in the Mn-deficient plants. The evidences of these are as follows:

1. The sugar content in the Mn-deficient leaves and fruits was significantly lower, than in the healthy ones.

2. Mn-deficient leaves and stems contained remarkable quantities of the nitrate nitrogen much more, than the plants sufficiently supplied with Mn.

3. Shading of plants influenced more in a negative way the development of the Mn-deficient tomato plants, than the healthy ones; on the other hand the application of saccharose to leaves increased more the yield of the Mn-deficient plants.

III. The participation of the manganese in the photosynthetic process is not a sole physiological function of this element:

1. Mn-deficiency influenced significantly the generative development of the tomato plants.

2. The Mn-deficient tomato leaves respired more intensively, and showed a higher catalase activity, than the healthy leaves. This would be an indication of destructive effect of the redox potency in the Mn-deficient plants.

Some further experiments are in progress.

Laboratory of Plant Nutrition Physiology
of the Institute for Soil Cultivation
Fertilizing, and Soil Science — Pulawy

LITERATURA

Brzeski W. i Kaniuga Z., 1956, Ćwiczenia z biochemii roślin, Warszawa, Państw. Wyd. Nauk.

Burström H., 1939/40, Die Rolle des Mangans bei der Nitratassimilation, Planta 30:129—150 (ref. w. Zeitschr. für Pflanzenernähr. Düng, und Bodenkunde 1948. 41/2/:160).

Chmielewska J. i zespół redakc., 1955. Metody badania składników roślin, Warszawa P.I.W.R.L.

Czosnowski J. i Szweykowska A., 1954, Ćwiczenia z fizjologii roślin, Poznań, Państw. Wyd. Nauk.

Eltlinge E. T., 1941, Effect of manganese deficiency upon the histology of *Lycopersicum esculentum*, Plant Physiol. 16:189—195.

Friederichsen I. 1944, Über Funktionen des Mangans im Stoffwechsel der höheren Pflanzen, Planta 34/1/:67—87.

Gerretsen F. C., 1949, Manganese relation to photosynthesis; Carbon dioxide assimilation and the typical symptoms of manganese deficiency of oats, plant and soil 1/4/:346—358.

Gerretsen F. C., 1950, Manganese in relation to photosynthesis. II. Redox potentials of illuminated crude chloroplast suspensions, Plant and Soil 2/2/:159—193.

Grabianowska B., 1954, Oznaczanie aktywności katalazy w materiale roślinnym, Acta Bioch. Pol. 1/3—4/:265—276.

Kessler E., 1957, Über die Rolle des Mangans bei Photoreduktion und Photosynthese, Planta 49:435—454.

Lundegårdh H., 1939, Mangan als Katalysator der Pflanzenatmung, Planta 29:419—426.

Maksimow A., 1945, Mikroelementy i ich znaczenie w życiu organizmów, PWRiL, Warszawa.

Maksimow A. i Chroboczek E., 1954, Znaczenie mikroelementów w uprawie warzyw na glebach torfowych, Roczn. Nauk Roln. i Leśn. 68-A-3:433—479.

Mapson L. W., 1955, The biosynthesis of ascorbic acid. Vitamins and Hormons 13:71—100.

McElroy W. D. and Alvin Nason, 1954, Mechanism of action of micronutrient elements in enzyme systems, Annual Review of Plant Physiol. 5:1—30.

Mulder E. G., Gerrtsen F. C., 1952, Soil Manganese in Relation to Plant Growth, Advances in Agronomy, 4:221—277.

Musierowicz A., Górski A., Zagitz J., 1948, Materiały do poznania zawartości manganu w glebach polskich, Roczn. Nauk Roln. Leśn. 51:265—274.

Olsen C., 1950, The Significance of Concentration for the Rate of Ion Absorption by Higher Plants in Water Culture, Physiologia Plantarum 3/2/:152—164.

Oulette G. J., 1951, Iron-manganese interrelationships in plant nutrition. Scientific Agriculture 31/7/:227—285.

Pirson A., Bergman L., 1955, Manganese Requirement and Carbon Source in Chlorella, Nature 176/4474/:209—210.

Reifer J., 1939, Nitrate Nitrogen in Plant Material, N. Z. Journ. Sci. a Tech. XX./No 6 B/341 B.—345 B.

Romney E., Toth S., 1954, Plant and soil studies with radioactive manganese. Soil Sci. 77/2/:107—117 (wg tłumaczenia O. Nowosielskiego: Zastosowanie izotopów w badaniach rolniczych — zbiór przekładów pod red. M. Górskiego i St. Moskala, Warszawa P.I.W.R.iL., 1956).

Ruck H. C., Gregory F. G., 1955, Mobility of manganese, magnesium and potassium in leaf tissues, Nature 175:378—379 (ref. w Zeitschr. für Pflanzenernähr. Düng. u. Bodenkunde 1955, 71/2/:161).

Rudra M. N., 1938, Role of manganese in the biological synthesis of ascorbic acid, Nature 141:203.

Rudra M. N., 1938, Role of manganese in the biological synthesis of ascorbic acid, Nature 153:743.

Ruszkowska M., Zinkiewicz J., 1953, Kwas askorbinowy w pomidorach, Roczn. Nauk. Roln. 66-A-2:29—42.

Schillak R., 1954, Oznaczanie składników mineralnych w materiałach roślinnych, Referaty i Komunikaty Zjazdu P.T.G. w r. 1954.

Stiles W., 1946, Trace elements in plants and animals.

Szkolnik M., 1950, Znaczenije mikroelementow w żizni rastienij i w ziemledielii, Izd. Ak. N. SSSR, Moskwa — Leningrad.

Weinstein L. W., Robbins W. R., 1955, The effect of different iron and manganese nutrient levels on the green and albino sunflower leaf tissues, Plant Physiol. 30/1/:27—32.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Wpływ substancji wzrostowych na pobieranie wody i metabolizm węglowodanowy w skrawkach ziemniaka

The influence of auxins on the uptake of water and carbohydrate metabolism in potato discs

J. BUCZEK i L. BADURA

WSTĘP

Powszechnie wiadomo, że tkanki roślinne potraktowane substancjami wzrostowymi takimi jak kwasy β-indolooctowy (KIO) i α-naftylooctowy (KNO) mają zdolność pobierania znacznie większych ilości wody niż tkanki nie traktowane tymi substancjami. Badania nad tą właściwością substancji wzrostowych (SW) zapoczątkował D. E. Reinders (1938) przeprowadzając doświadczenia na skrawkach bulw ziemniaczanych. Zjawisko to niebawem potwierdziły późniejsze badania Reindersa (1942) oraz B. Commonera i współpracowników (1943), dotyczące indukowania absorpcji wody pod wpływem SW przez rozmaite tkanki roślinne. W dalszych badaniach prowadzonych przez J. van Overbeeka (1944), J. Levitta (1948), D. P. Hacketta (1952), D. P. Hacketta i K. V. Thimanna (1952) oraz J. Bonnera (1953) próbowano wyjaśnić to zjawisko oraz wytłumaczyć wpływ SW na pobieranie wody.

Uogólniając wyniki doświadczeń wyżej cytowanych autorów możemy stwierdzić, że: a. pod wpływem SW pewne tkanki roślinne wykazują zdolność do pobierania wody w większych ilościach niż tkanki nie traktowane tymi związkami; b. pod wpływem SW niektóre tkanki roślinne znajdujące się w roztworach hypertonicznych nie tracą wody, a nawet posiadają zdolność pobierania jej z tych roztworów; c. wpływ SW na absorpcję wody jest uzależniony od warunków aerobowych, proces zupełnie ustaje w warunkach anaerobowych; d. proces ten jest hamowany przez typowe inhibitory oddechowe.

Bardzo ciekawe badania odnośnie do działania inhibitorów przeprowadził J. Bonner (1953). Badał on wpływ KIO i 2,4-dwunitrofenolu

na pobieranie wody przez skrawki sporządzone z bulw karczocha. Okazało się, że 2,4-dwunitrofenol hamował pobieranie wody. Wnioskować stąd można, że wzmożone pobieranie wody pod wpływem KIO, jest zależne od przemian energetycznych, co z kolei nasuwa przypuszczenie, że wpływ SW na absorpcję wody przez tkanki rozmaitych roślin jest uzależniony od ogólnego metabolizmu komórkowego.

Omawiając dalej to zagadnienie należy z kolei przytoczyć dane dotyczące samego mechanizmu działania SW na wzmożone pobieranie wody przez komórki roślinne. Znane są rozmaite próby starające się wyjaśnić to zagadnienie. I tak B. Commoner i współpracownicy (1943) badając wpływ SW na pobieranie wody przez skrawki ziemniaka z roztworów hypertonicznych w obecności soli potasu stwierdzili, że KIO zapobiega utracie wody przez te skrawki. Zjawisko tu tłumaczy Commoner indukowaniem przez KIO pobierania osmotycznie czynnych substancji np. jonów potasu. Wzmożone pobieranie wody jest natomiast wtórnym procesem działania SW. Do innych wniosków dochodzą J. Levitt (1948) i J. van Overbeek (1944). Przeprowadzone przez tych autorów pomiary wartości osmotycznych w skrawkach ziemniaczanych przez oznaczanie punktu zamarzania, chociaż są nieco różne (w doświadczeniu Overbeeka wartość osmotyczna jest niższa o około 6% niż w kontroli, a w doświadczeniach Levitta około 1,8%), wykazują jednak zbieżne tendencje, mianowicie: dużemu pobieraniu wody pod wpływem SW towarzyszy zawsze spadek wartości osmotycznej wewnątrz komórek. Obydwaj autorzy są zgodni co do tego, że absorpcja wody pod wpływem KIO czy KNO nie polega na zwiększeniu ciśnienia osmotycznego wewnątrz komórki. Doświadczenia te potwierdzone zostały w kilka lat później przez Hacketta (1952) również na skrawkach ziemniaka. Dotyczyły one pobierania wody i obniżania punktu zamarzania pod wpływem KNO. Autor nie stwierdził wzrostu ciśnienia osmotycznego pod wpływem KNO, a nawet obserwował w skrawkach moczonych w SW pewne zmniejszanie się wartości osmotycznej (o 25%).

Zgodnie z powyższymi badaniami, wpływ SW na pobieranie wody nie polegałby na zwiększaniu ciśnienia osmotycznego, ale — jak przypuszcza Hackett — auksyny wpływałyby na zmianę turgoru (zmiana plastyczności lub elastyczności ściany komórkowej) lub regulowałyby jakieś bliżej nie określone wnikanie wody do komórki.

Istnieją jednak prace, które wskazują, że KIO czy KNO mają zdolność zwiększenia rozkładu skrobi w tkankach niektórych roślin (J. W. Mitchell 1940 a i b; J. M. Beal 1940; S. C. Bausor 1942 i inni). Trudno jednak przyjąć ten fakt, wobec wyżej przytoczonych wyników, aby SW wpływała na zwiększone pobieranie wody poprzez hydrolizę skrobi

w tkankach roślinnych. Natomiast można by przypuszczać, że SW uczestniczą w jakiś sposób w metabolizmie węglowodanowym komórki.

Celem tej pracy było zbadanie, czy istnieje korelacja pomiędzy metabolizmem węglowodanowym a pobieraniem wody pod wpływem KIO i KNO.

METODY

Doświadczenia przeprowadzono na ziemniakach przy użyciu metody potometrycznej opracowanej przez D. P. H a c k e t t a i K. V. T h i m a n n a (1950). Ponieważ dokładny opis metody znajduje się w monografii H. L i n s e r a i O. K i e r m a y e r a (1957) organiczamy się w tej pracy do krótkiego zreferowania toku postępowania.

Z bulw ziemniaczanych wycinano przy pomocy rurki metalowej walce o jednakowej średnicy (1 cm), z których cięto skrawki o grubości 1 mm przy pomocy mikrotomu. Skrawki te płukano w bieżącej wodzie wodociągowej przez 30 minut, następnie pozostawiano w niewielkiej ilości wody na przeciąg 24 godzin. Po upływie tego czasu, po osuszeniu bibułą, ważono je grupami po 10 krążków na wadze torsyjnej z dokładnością do 1 mg. Ciężar tak przygotowanych skrawków oznaczano jako „początkową świeżą masę". Każdą grupę skrawków układano na gazie naciągniętej na szalki Petriego. Szalki wkładano do krystalizatorów. Do szalek i krystalizatorów nalewano odpowiednich roztworów SW sporządzonych na wodzie wodociągowej. Roztwory te nalewano w takiej ilości, by dotykały rozpostartych na gazie skrawków. Tak przygotowane krążki umieszczano w termostacie o temperaturze 25°C i maksymalnej wilgotności względnej.

Doświadczenia przeprowadzono równocześnie w trzech kombinacjach: I. w wodzie wodociągowej, II. w wodzie wodociągowej z dodatkiem kwasu α-naftylooctowego (KNO) oraz III. w wodzie wodociągowej z dodatkiem kwasu β-indolooctowego (KIO). Ponieważ przypuszcza się, że KIO ulega częściowej inaktywacji wymieniano w czasie trwania doświadczenia w odstępach dwudniowych dany roztwór. Nie wymieniano natomiast roztworu zawierającego KNO, który jest bardziej stabilny. Każda kombinacja miała 27 równoległych powtórzeń. W tabelach dla każdego powtórzenia podano średnią arytmetyczną. Pobraną wodę oznaczano z różnicy ciężarów świeżej masy i „początkowej świeżej masy".

Równolegle z pomiarami pobierania wody oznaczono cukry posługując się metodami opisanymi przez A. B i e ł o z i e r s k i e g o i N. P r o s k u r i a k o w a (1954) z pewną modyfikacją, dotyczącą oznaczania wielocukrów. Mianowicie materiał po ekstrakcji alkoholem cukrów prostych i dwucukrów, po wysuszeniu, zadawano 2% HCl, hydrolizując w ciągu

6 godzin. Oznaczano w ten sposób wszystkie wielocukry, takie jak skrobia, hemicelulozy itp., z wyjątkiem celulozy. Cukry proste i zhydrolizowane wielocukry oznaczano metodą Bertranda. Oznaczenia przeprowadzono dla każdej kombinacji doświadczeń w trzech powtórzeniach.

Ponadto, równolegle z pomiarami pobierania wody i oznaczania cukrów, oznaczano suchą masę skrawków ziemniaka, biorąc po trzy próbki dla każdej kombinacji. Skrawki po zważeniu suszono w suszarce, początkowo w temperaturze 50°C w ciągu 15 minut, po czym w temperaturze 105°C w ciągu 6 godzin. Z różnicy ciężarów obliczano procent ubytku suchej masy. Wszystkich pomiarów (pobierania wody, zawartość węglowodanów oraz sucha masa) dokonywano w odstępach dwudniowych.

Ze względu na przypadkowy charakter pomiarów użyto do obliczeń średniego błędu μ następującego wzoru:

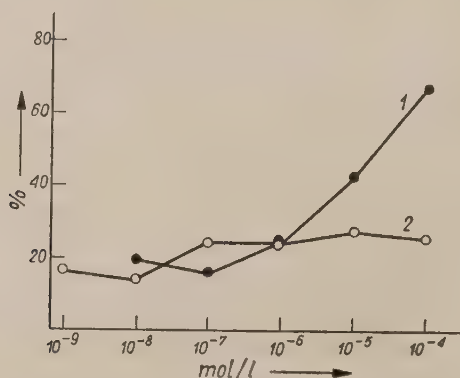
$$\mu \pm \sqrt{\frac{\Sigma (f)^2}{n-1}}$$

gdzie f różnica pomiędzy poszczególnym pomiarem a średnicą arytmetyczną, n — ilość pomiarów.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

1. Zależność absorpcji wody od stężenia SW.

Dla użytych do doświadczeń ziemniaków należało znaleźć przede wszystkim odpowiednie stężenie auksyn, które najkorzystniej wpływałoby na pobieranie wody. Dlatego też doświadczenia rozpoczęto od zna-



Wykres 1. Przyrost świeżej masy skrawków ziemniaka w procentach w zależności od stężenia substancji wzrostowych: *1* — kwas naftylooctowy (KNO); *2* — kwas indolooctowy (KIO)

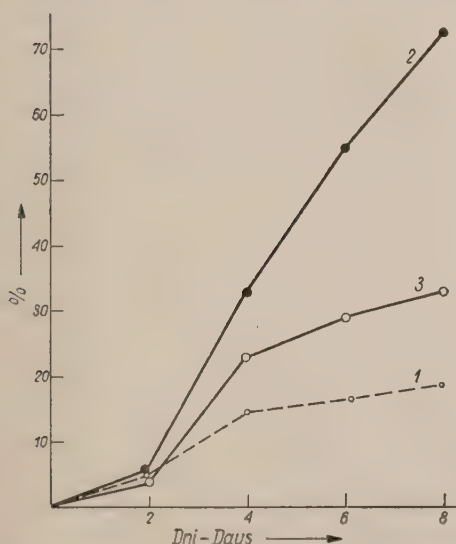
The effect of various concentrations of auxins on the increase in fresh weight of potato discs: *1* — naphtaleneacetic acid (NAA); *2* — indoleacetic acid (IAA)

lezienia odpowiedniego stężenia dla KIO i KNO. Skrawki sporządzono w sposób opisany w części metodycznej niniejszej pracy i następnie badano efekt różnych stężeń tych związków na pobieranie wody. Doświadczenie trwało 6 dni. Stosowano następujące stężenia dla KIO i KNO: 10^{-4} mol/l, 10^{-5} mol/l, 10^{-6} mol/l, 10^{-7} mol/l, 10^{-8} mol/l oraz 10^{-9} mol/l. Wyniki podane są na wykresie 1.

KNO działał najkorzystniej w stężeniu 10^{-4} mol/l dlatego w dalszych doświadczeniach stosowano to stężenie. KIO natomiast działał prawie identycznie przy stężeniu 10^{-4} i 10^{-5} mol/l. Z tego więc powodu w następnych doświadczeniach stosowano dla KIO stężenie 5×10^{-5} mol/l.

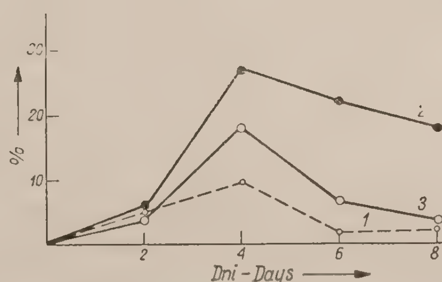
2. Wpływ KNO i KIO na pobieranie wody przez skrawki z bulw ziemniaka

Wyniki pomiarów pobierania wody przez skrawki ziemniaka podane są w tabeli 1. Obliczono je jako średnie z 27 powtórzeń. Doświadczenie trwało 8 dni. W odstępach dwudniowych skrawki ważono.



Wykres 2. Przyrost świeżej masy skrawków ziemniaka w procentach w zależności od czasu trwania doświadczenia: *1* — H_2O; *2* — KNO; *3* — KIO

The effect of duration of experiments on the increase in fresh weight (in per cent): *1* — H_2O; *2* — NAA; *3* — IAA



Wykres 3. Intensywność pobierania wody w poszczególnych dniach pomiaru wyrażona w procentach początkowej świeżej masy: *1* — H_2O; *2* — KNO; *3* — KIO

The increase in fresh weight (in per cent) as calculated from the differences between experiments: *1* — H_2O; *2* — NAA; *3* — IAA

Tabela 1 — Table 1

Przyrost świeżej masy skrawków ziemniaka w procentach. Wyniki obliczono z 27 powtórzeń dla każdej kombinacji
The increase in fresh weight of potato discs (in per cent). 27 samples in each experiment were taken, the mean values are given

Doświadczenie Experiment	Dnie od rozpoczęcia doświadczenia — Days from start								
	0	2		4		6		8	
	Świeża masa Fresh weight mg	Ciężar Weight mg	% przyrostu Per cent increase	Ciężar Weight mg	% przyrostu Per cent increase	Ciężar Weight mg	% przyrostu Per cent increase	Ciężar Weight mg	% przyrostu Per cent increase
I H_2O	1035,3	1087,3	5,0	1185,6	14,5	1206,3	16,5	1233,6	19,1
II KNO NAA 10^{-4}	1037,0	1095,3	5,6	1377,3	32,8	1605,3	54,9	1790,3	72,7
III KIO IAA 5×10^{-5}	1036,0	1080,3	4,2	1271,7	22,8	1339,3	29,3	1378,0	33,0

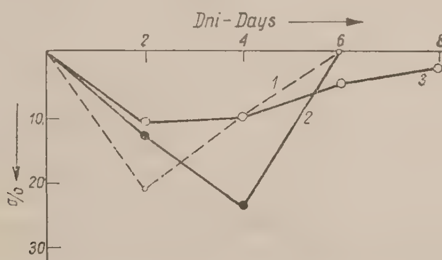
Cyfry określają przyrost świeżej masy skrawków wyrażony w procentach „początkowej świeżej masy". Okazało się, iż silniejszy wpływ na pobieranie wody wywiera KNO, natomiast KIO działa słabiej (wykres 2).

W dalszych doświadczeniach ważne było określenie intensywności pobierania wody w określonym czasie, innymi słowy, w jakim czasie od chwili założenia doświadczenia skrawki ziemniaka najintensywniej pobierają wodę. Zależność tę obrazuje wykres 3.

Wyniki obliczone są z różnicy procentowego przyrostu świeżej masy pomiędzy poszczególnymi pomiarami (odstępy dwudniowe). Najintensywniejsze pobieranie wody zachodzi pomiędzy 2 a 4 dniem doświadczenia i to niezależnie od tego, czy proces ten jest indukowany względnie nie jest indukowany przez auksyny. Silniejszy wpływ wykazuje tutaj KNO, natomiast działanie KIO jest nieco słabsze. W następnych dniach, we wszystkich kombinacjach intensywność procesu wyraźnie spada.

3. Metabolizm węglowodanowy skrawków z bulw ziemniaka traktowanych KNO i KIO

Równolegle z pomiarami pobierania wody przeprowadzono analizy przemian węglowodanów w badanych skrawkach. Badano ubytek wielocukrów oraz poziom jedno- i dwucukrów (tabela 2).



Wykres 4. Intensywność ubytku wielocukrów w procentach pomiędzy poszczególnymi pomiarami: *1* — H_2O; *2* — KNO; *3* — KIO

Rate of decrease of polysaccharides (in per cent calculated from the difference between experiments): *1* — H_2O; *2* — NAA; *3* — IAA

Tabela 2 ilustruje dane dotyczące ubytku wielocukrów. Poszczególne wyniki dla każdej kombinacji podane są jako średnie z trzech powtórzeń. Przy porównaniu procentowego ubytku wielocukrów oddzielnie dla każdego doświadczenia, okazuje się, że udowodnione statystycznie różnice w ubytku wielocukrów zachodzą tylko pomiędzy 2 a 4 dniem pomiaru

Tabela 2 — Table 2

Ubytek zawartości wielocukrów w skrawkach ziemniaka. Różnice w ilości wielocukrów wyrażone w % początkowej świeżej masy
The decrease in the content of polysaccharides in potato discs. The differences in the content of polysaccharides are given in per cent of initial fresh weight

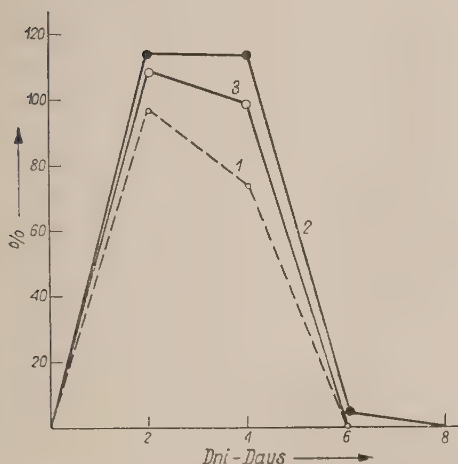
Doświadczenie Experiment	Dnie od rozpoczęścia doświadczenie — Days from start								
	0	2		4		6		8	
	mg	mg	% ubytku Per cent decrease	mg	% ubytku Per cent decrease	mg	% ubytku Per cent decrease	mg	% ubytku Per cent decrease
I H_2O	164	130	20,7±4,5	113	31,1±3,9	117	28,7±3,9	115	29,9±3,9
II KNO NAA 10^{-4}	164	143	12,8±6,9	104	36,6±3,7	108	34,2±5,7	107	34,8±4,1
III KIO IAA 5×10^{-5}	164	146	10,9±5,3	130	20,7±3,4	122	25,6±4,8	118	28,1±4,7

Tabela 3 — Table 3

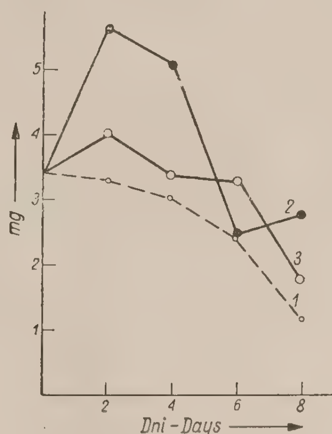
Przyrost zawartości jedno- i dwucukrów w skrawkach ziemniaka, wyrażony w % początkowej świeżej masy
The increase in mono- and disaccharides in potato discs (given in per cent of initial fresh weight)

Doświadczenie Experiment	Dnie od rozpoczęcia doświadczenia — Days from start								
	0	2		4		6		8	
	mg	mg	% przyrostu Per cent increase	mg	% przyrostu Per cent increase	mg	% przyrostu Per cent increase	mg	% przyrostu Per cent increase
I H_2O	6,8	13,4	97,2± 1,0	18,4	170,8± 9,5	18,3	169,5±14,3	17,6	161,5±11,6
II KNO NAA 10^{-4}	6,8	14,5	113,5±11,0	22,2	226,4±25,6	22,6	231,2± 8,3	22,4	229,8± 1,3
III KIO IAA 5×10^{-5}	6,8	14,2	108,9±18,6	20,9	207,5±15,6	20,7	204,5±12,5	20,5	200,5±12,8

we wszystkich trzech kombinacjach. Różnica ta po uwzględnieniu błędów średnich dla skrawków moczonych w wodzie wynosi 2,0%, dla KNO 3,2%, dla KIO 2,1%. Jednakże w doświadczeniu trzecim z KIO obserwuje się pewną tendencję dalszego ubytku wielocukrów, chociaż różnice w ubytku tych węglowodanów nie wychodzą poza granice błędu.



Wykres 5. Intensywność przyrostu jedno- i dwucukrów w procentach pomiędzy poszczególnymi pomiarami: *1* — H_2O; *2* — KNO; *3* — KIO
Rate of increase of mono- and disaccharides (in per cent calculated from the difference between experiments): *1* — H_2O; *2* — NAA; *3* — IAA



Wykres 6. Zawartość sacharozy wyrażona w mg w czasie trwania doświadczenia: *1* — H_2O; *2* — KNO; *3* — KIO
Sucrose content in mg in potato discs: *1* — H_2O; *2* — NAA; *3* — IAA

Jest to o tyle interesujące, że nie obserwuje się podobnych tendencji u skrawków moczonych w wodzie czy w KNO. Zależności te podaje wykres 4.

Analizując procentowy ubytek wielocukrów pomiędzy poszczególnymi kombinacjami, można stwierdzić, że statystycznie uzasadnione różnice w ubytku wielocukrów zachodzą pomiędzy skrawkami moczonymi w wodzie i KIO w 4 dniu, oraz pomiędzy skrawkami moczonymi w KNO i KIO również w 4 dniu pomiaru. Nie obserwuje się natomiast różnic pomiędzy skrawkami moczonymi w wodzie i KNO.

Równocześnie z badaniem ubytku wielocukrów określano zmiany, jakie zachodzą w zawartości jedno- i dwucukrów. Wyniki tego doświadczenia umieszczone są w tabeli 3. Okazuje się że już w drugim dniu po-

miaru zawartość jedno- i dwucukrów wzrasta dwukrotnie we wszystkich kombinacjach. Ten intensywny wzrost cukrów utrzymuje się do 4 dnia doświadczenia, a ich ilość zwiększa się prawie trzykrotnie. Po tym intensywnym wzroście jedno i dwucukrów, w dalszych dniach ilość ich utrzymuje się na stałym poziomie (wykres 5). Przy porównaniu procentu przyrostu jedno- i dwucukrowców pomiędzy poszczególnymi kombinacjami, okazuje się, że różnice statycznie udowodnione występują pomiędzy skrawkami moczonymi w wodzie i KNO we wszystkich dniach doświadczenia, pomiędzy skrawkami z wody i KIO zachodzą również (z wyjątkiem pomiaru w 2 dniu), natomiast pomiędzy KNO i KIO różnice w przyroście cukrów występują tylko w dwu ostatnich pomiarach, to znaczy w 6 i 8 dniu.

Ze względu na zachowanie się cukrów prostych, na uwagę zasługuje wykres 6 charakteryzujący zmiany, jakie zachodzą w poziomie sacharozy w trakcie trwania doświadczenia we wszystkich kombinacjach.

Tabela 4 — Table 4

Stosunek — wielocukry: jedno i dwucukry
Ratio — polysaccharides: mono- and disaccharides

Doświadczenie Experiment	Dnie od rozpoczęcia doświadczenia — Days from start				
	0	2	4	6	8
I H_2O	24,1±0,60	9,7±0,60	6,2±0,47	6,4±0,52	6,5±0,53
II KNO 10^{-4} NAA	24,1±0,60	9,9±1,10	4,6±0,47	4,8±0,47	4,8±0,46
III KIO 5×10^{-5} IAA	24,1±0,60	10,3±1,00	6,2±0,40	5,9±0,51	5,7±0,50

Z wykresu tego widać wyraźnie, że KNO bardzo silnie wpływa na gromadzenie się sacharozy w 2 i 4 dniu pomiaru. KIO działa nieco słabiej na ten proces, natomiast w kombinacji z wodą obserwujemy powolny, lecz stały spadek sacharozy.

Ciekawy jest obraz, jaki daje tabela 4, uwzględniająca stosunek wielocukrów do jedno- i dwucukrów. Wartość tego stosunku wyraźnie spada w 2 i 4 dniu pomiaru. W dalszych dniach natomiast, utrzymuje się

Tabela 5 — Table 5

Ubytek suchej masy skrawków ziemniaka wyrażony w % początkowej suchej masy

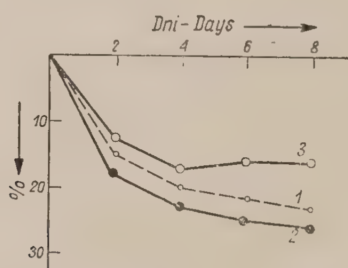
The decrease in dry weight in potato discs given in per cent of initial dry weight

Doświadczenie Experiment	Dnie od rozpoczęcia doświadczenia — Days from start							
	0	2		4		6		8	
	mg	gm	% ubytku Per cent decrease	mg	% ubytku Per cent decrease	mg	% ubytku Per cent decrease	mg	% ubytku Per cent decrease
I H_2O	209	177	15,3±7,1	173	20,2±4,0	162	21,5±4,0	160	23,4±3,9
II KNO NAA 10^{-4}	209	172	17,7±3,6	161	22,9±4,8	157	24,9±4,7	155	25,9±4,1
III KIO IAA 5×10^{-5}	209	184	11,9±4,5	174	16,7±5,8	177	15,3±4,0	175	16,2±4,7

na stałym poziomie. Z danych umieszczonych w tabeli 4 wynika, że w 2 dniu wartość stosunku: *Wielocukier/cukier* jest jednakowa dla trzech kombinacji. W 4 dniu wartość stosunku spada dalej we wszystkich kombinacjach, przy czym spadek ten jest silniejszy dla KNO.

4. Ubytek suchej masy

Oznaczanie suchej masy (sm) przeprowadzono równolegle z pomiarami pobierania wody. Wyniki tych pomiarów podane są w tabeli 5.



Wykres 7. Intensywność ubytku suchej masy w procentach początkowej suchej masy pomiędzy poszczególnymi pomiarami: *1* — H_2O; *2* — KNO; *3* — KIO
Rate of decrease in dry weight (in per cent calculated from the difference between experiments): *1* — H_2O; *2* — NAA; *3* — IAA

Obserwuje się tutaj stały spadek sm bez istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi doświadczeniami (wykres 7).

DYSKUSJA WYNIKÓW

1. Zależność pomiędzy metabolizmem węglowodanowym a pobieraniem wody

Z przeprowadzonych doświadczeń na skrawkach bulw ziemniaczanych wynika, że w trakcie trwania obserwacji (8 dni) woda jest bardzo silnie pobierana przez komórki parenchymatyczne w 2 i 4 dniu pomiaru. W następnych dniach intensywność ta zmniejsza się (szósty dzień), ustalając się w końcu na stałym poziomie (wykres 3). Równocześnie z tym intensywnym pobieraniem wody obserwujemy wyraźny spadek zawartości wielocukrów (wykres 4). Wraz ze spadkiem ilości wielocukrów obserwo-

waliśmy wyraźne nagromadzanie się cukrów prostych (wykres 5), przy czym zwiększanie się cukrów prostych ustaje w 4 dniu doświadczenia. O takim nagromadzeniu się cukrów prostych kosztem hydrolizy wielocukrów mówi nam również obliczony stosunek wielocukrów do jedno- i dwucukrów (tabela 4). Z wartości tego stosunku wyraźnie widać, że zmiany w poziomie węglowodanów zachodzą do 4 dnia pomiaru. Proces ten przebiega więc równolegle z najintensywniejszym pobieraniem wody przez skrawki ziemniaka.

Nieco odmiennie zachowuje się krzywa ubytku suchej masy, która spada dość szybko do drugiego dnia pomiaru, a następnie obniża się stale, lecz bardzo wolno (wykres 7).

Z tych zestawień wynika, że proces pobierania wody jest skorelowany z przemianami węglowodanowymi. Można również przypuścić, że w tym czasie zachodzą najintensywniejsze procesy oksydoredukcyjne, które są związane z czynnym pobieraniem wody.

2. Zależność pomiędzy metabolizmem węglowodanowym a pobieraniem wody pod wpływem KNO i KIO

W poprzednim punkcie rozpatrzyliśmy zachowanie się tkanek bulw ziemniaka, gdy znajdowały się one w wodzie wodociągowej. Obecnie rozpatrzymy zmiany, jakie zachodzą pod wpływem SW. Z przebiegu krzywej pobierania wody (wykres 2 i 3) wynika wyraźnie, że zmiany, jakie zachodzą, są tylko ilościowe, a nie jakościowe, to znaczy, że pobieranie wody pod wpływem działania KNO i KIO jest tylko intensywniejsze i, podobnie jak dla skrawków moczonych w wodzie, ograniczone w czasie 2 i 4 dnia doświadczenia. W następnych dniach, jakkolwiek absorpcja wody utrzymuje się stale na wyższym poziomie niż w kombinacji z wodą, to jednak zmniejsza się wyraźnie intensywność tego procesu (wykres 3). Temu intensywnemu pobieraniu wody towarzyszy ubytek wielocukrów, podobnie jak w doświadczeniu z wodą (wykres 4). Jednakże ten ubytek wielocukrów w skrawkach poddanych działaniu auksyn bynajmniej nie jest większy od rozkładu wielocukrów w skrawkach moczonych w wodzie. Co więcej w wypadku działania KIO obserwowaliśmy zahamowanie rozkładu wielocukrów w porównaniu z działaniem KNO i czystej wody. Tego niezrozumiałego wpływu KIO na rozkład wielocukrów niestety nie można wyjaśnić bez dalszych badań, tym bardziej że poziom cukrów prostych wykazuje w 2 i 4 dniu doświadczenia silną tendencję wzrostową. Istotne różnice (statystycznie udowodnione) w przyroście cukrów prostych obserwujemy w 4 dniu pomiaru. Poziom jedno- i dwucukrów w skrawkach moczonych w KNO jest wyższy

o 21,1%, a moczonych w KIO o 11,6% (po uwzględnieniu błędów średnich) niż w doświadczeniach z wodą. Widać tu wyraźny wpływ SW na ilość cukrów prostych (tabela 3, wykres 5). Wyraźnie zaznacza się ten wpływ KNO przy wzroście sacharozy (wykres 6). Być może, że jest to związane z mobilizacją sacharozy jako materiału oddechowego, jak to sugeruje W. O. James (1953). O pewnym działaniu KNO na zwiększanie się jedno- i dwucukrów mówi nam również obliczony stosunek: *wielocukry/jedno- i dwucukry*. Z tego stosunku widać wyraźne (poza granicami błędu) działanie KNO na zwiększanie się ilości cukrów i zmniejszanie się ilości wielocukrów. KIO jednakże nie wykazuje żadnych istotnych różnic w stosunku do kombinacji z wodą (tabela 4).

Niewielkie zmiany pod wpływem SW w stosunku do kombinacji z wodą obserwowaliśmy w ubytku suchej masy (wykres 7). Jedynie KIO wykazuje wyraźny wpływ na zmniejszenie ubytku suchej masy. Być może, że pozostaje to w związku z obserwowanym przez nas słabszym działaniem KIO na pobieranie wody i na przemiany węglowodanowe w skrawkach ziemniaka.

Uogólniając te wyniki możemy powiedzieć, że KNO w jakiś sposób wpływa na rozkład skrobi i nagromadzanie się większych ilości cukrów prostych, zwłaszcza sacharozy. Wydaje się natomiast, że działanie KIO na mechanizm pobierania wody jest w tym zestawieniu niejasne i wymaga dalszych badań.

Przytoczone badania sugerują, że mechanizm pobierania wody przez skrawki ziemniaka pod wpływem KIO i KNO jest związany z przemianami węglowodanowymi. Wskazuje na to zwiększony poziom cukrów prostych w kombinacjach z substancjami wzrostowymi w porównaniu z skrawkami moczonymi w wodzie. Mogłoby to wskazywać na pobieranie wody na drodze osmotycznej, przynajmniej w odniesieniu do skrawków moczonych w wodzie i substancjach wzrostowych. Nie dałoby się jednak w ten sposób wytłumaczyć pobierania wody na drodze osmotycznej przez skrawki moczone w KNO i KIO, pomiędzy którymi występują dość znaczne różnice w pobieraniu wody, natomiast nie obserwuje się różnic w przyroście jedno- i dwucukrów w początkowych dniach pomiaru. Należałoby przeprowadzić tutaj równoczesne badania wartości osmotycznej soku komórkowego skrawków ziemniaka. Natomiast z zachowania się krzywej, obrazującej ilość sacharozy w poszczególnych kombinacjach, niedwuznacznie wynika, że mamy tu do czynienia z procesem energetycznym, gdyż sacharoza według O. W. Jamesa jest u ziemniaków substratem oddechowym. Ponieważ w skrawkach poddanych działaniu KIO i KNO obserwujemy mniejsze zużycie sacharozy, można by przypuszczać, iż pobieranie wody pod wpływem tych substancji odbywa się przy mniejszym nakładzie energii. Sugerowałoby to, że KIO i KNO ułatwiają wejście wody

do komórki przy zużyciu mniejszej ilości energii. Jest to zrozumiałe, gdy weźmie się pod uwagę działanie tych hormonów na błonę komórkową (zmiany elastyczne względnie plastyczne).

WNIOSKI

Uogólniając wyniki badań można wysunąć następujące wnioski:

1. KNO i KIO stymulują pobieranie wody przez skrawki ziemniaka.
2. Proces pobierania wody przez skrawki ziemniaka jest zależny od przemian węglowodanowych i to zarówno w skrawkach moczonych w wodzie, jak i w KNO i KIO. Uwidacznia się to w rozkładzie skrobi i nagromadzeniu jedno- i dwucukrów.
3. Stwierdzono stymulujące działanie KIO i KNO na gromadzenie się sacharozy.
4. Nasuwa się uwaga, że pobieranie wody pod wpływem SW jest raczej uzależnione od przemian energetycznych niż od wartości osmotycznej.

Zakład Fizjologii Roślin
Uniwersytetu we Wrocławiu

(Wpłynęło dn. 30.3.60 r.)

SUMMARY

The effect of auxins in promoting the uptake of water by certain plant tissues was stated in the works of B. Commoner (1943), J. V. Overbeek (1944), J. Lewitt (1948), D. P. Hackett (1952), J. Bonner (1953) and others. It was also reported that the water absorption process was dependent upon the aerobic conditions of the tissue. The increased water uptake is probably connected rather with the general respiratory processes than with the increase in the osmotic value (J. W. Mitchel 1940, J. M. Beal 1940, S. C. Bausor 1942). If the water absorption is dependent upon the respiratory processes, one should expect that the auxin effect on the water uptake is linked with general metabolism of the cell.

The aim of the present paper was to establish if there was any correlation between carbohydrate metabolism and the promoting effect of naphtalene acetic acid (NAA) and indoleacetic acid (IAA) upon the water uptake. Experiments were done on potato tubers. The methods employed for the preperation of discs were described by D. P. Hackett and K. V. Thimann (1950). The water uptake was measured every two days during 8 days observations. Potato discs were left in (1) water, (2) NAA, (3) IAA. Most suitable concentrations of auxins were determined at the beginning of the experiments (Fig. 1). The water uptake, the amount of starch, mono- and disaccharides, and the decrease of dry weight was determined. The obtained results are shown in tables (1, 2, 3, 4, 5) and diagrams (Fig. 1—7). Reasuming one could state that the hydrolysis of

starch (Fig. 4) and the increase in the amount of sugars (Fig. 5) mainly sucrose (Fig. 6), was stimulated by NAA. In the process of starch hydrolysis the action of IAA was weaker than NAA, it was also weaker when compared with the discs in water alone. Also the values for mono- and disacchrides (Fig. 5) and sucrose (Fig. 6) were lower in comparison with the measurements obtained after NAA treatment. The above mentioned results seem to show that the water uptake is related with the metabolism of carbohydrates. Because no differences in the content of mono- and disaccharides in the discs remaining in water with auxins were stated, one could suggest that water uptake was not connected with the osmotic pressure. However, as is shown in Fig. 5, the decrease of the sucrose content in discs remaining in solution of auxins was smaller than in those discs which were left in water. According to James' results it was stated that sucrose is the respirable material in potatoes. It appears therefore, that the uptake of water is going on with much smaller output of energy when discs are left in auxins solution than in pure water. It is conceivable when one takes into consideration the effect of auxins on the cell wall (elastic and plastic changes).

In concluding the results one could state:

1. NAA and IAA are promoting the water uptake by potato discs.
2. The uptake of water is dependent upon the metabolism of carbohydrates both in the discs left in pure water and in auxin solution.
3. It was shown that auxins had a promoting effect on the increase of sucrose concentration.
4. It seems that the increased water uptake is dependent rather on the processes of respiration that on the osmotic concentration.

LITERATURA

Busor S. C., 1942, Bot. Gaz. 104: 115—121.

Beal J. M., 1940, Bot. Gaz. 102: 366—372.

Białozierski A., Proskuriakow N., 1954, Ćwiczenia z biochemii roślin, Warszawa, P.W.R. i L.

Bonner J., Bandurski R. S., Millered A., 1953, Physiol. Plant. 6: 511—522.

Commoner B., Fogel S., Müller W. H., 1943, Amer. J. Botany 30: 23—28.

Hackett D. P., 1952. Plant. Physiol. 27: 279—284.

Hackett D. P., Thimann K. V., 1950, Plant. Physiol. 25: 648—652.

Hackett D. P., Thimann K. V., 1952, Amer. J. Bot. 39: 553—560.

James W. O,. 1953. Plant Respiration. Oxford. At the Clarendon Press.

Levitt J., 1948, Plant Physiol. 23:505—515.

Linser H., Kiermayer O., 1957, Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe. Wien, Springer-Verlag.

Mittchel J. W.,, Kraus E. J., Whitehead Muriel R., 1940, Bot. Gaz. 102: 97—104.

Mittchel J. W., Whitehead Muriel R., 1940, Bot. Gaz. 102: 393—399.

Overbeek J. von, 1944, Amer. J. Bot. 31: 265—269.

Reinders D. E., 1938, Proc. Kon. Akad. v. Wetensch., Amsterdam. 41: 820—831.

Reinders D. E., 1942, Rec. trav. Botan Neerland. 39: 1—140.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Plankton roślinny niektórych stawów Tatrzańskich

Phytoplankton of some Tatra lakes

C. SZKLARCZYK-GAZDOWA

WSTĘP

W roku 1956, w okresie od drugiej połowy kwietnia do końca września, pobrano próby planktonu z siedmiu stawów położonych w Dolinie Stawów Gąsienicowych, z Czarnego Stawu Gąsienicowego, Zmarzłego, oraz ze Stawów Toporowego i Smreczyńskiego (ogółem z 11 stawów tatrzańskich, z tym że Czerwony Wschodni i Zachodni oraz Dwoiste Stawki ujęto razem).

Materiał ten miał służyć do przeprowadzenia analizy jakościowej planktonu w jeziorach położonych na różnych wysokościach ponad poziom morza oraz do prześledzenia rozwoju planktonu w ciągu całego okresu wegetacji.

Dotychczasowe wiadomości o planktonie stawów tatrzańskich

Prac poświęconych wyłącznie zbiorowisku planktonu w Tatrach było do tej pory niewiele. Częstsze są prace ogólne nad florą glonów — obejmujące jej całokształt lub tylko poszczególne grupy systematyczne — albo przyczynkowe prace o systematyce niektórych gatunków żyjących w Tatrach.

Jedną z najstarszych jest praca Schumanna (1867) o okrzemkach tatrzańskich. Autor znalazł w Tatrach 205 gatunków. Schumann podał wysokość poszczególnych stanowisk, temperaturę wody oraz niektóre dane meteorologiczne. Przeprowadził on interesującą m.in. obserwację, na podstawie której twierdzi, że ilość żeberek na okrywie pancerzyka okrzemki wzrasta proporcjonalnie do wysokości stanowiska. Starał się też podać pionowe rozmieszczenie znalezionych gatunków oraz podzielił je na występujące na granicie i na wapieniu.

Z późniejszych badaczy należy wymienić prof. Mariana Raciborskiego (1885), który opisał z Tatr liczne nowe gatunki wstężnic.

Dużym krokiem naprzód w znajomości flory tatrzańskiej są prace Romana Gutwińskiego. Praca pt. *Flora algarum montium tatrensium* (1909) jest dotąd podstawowym i najdokładniejszym opracowaniem flory glonów występujących na terenie Tatr. Autor wymienił w niej ponad 600 gatunków. Wśród znalezionych autor określił gatunki przewodnie dla poszczególnych pięter wysokościowych oraz podał gatunki charakterystyczne dla potoków i jezior.

W jednej ze swych prac zajmuje się Gutwiński florą i planktonem Morskiego Oka. Badania te oparte są na materiale St. Minkiewicza zebranym w ciągu 2 lat. Próby pobierane były z różnych głębokości jeziora. Autor przytoczył liczne gatunki strefy litoralnej i pelagicznej i wyróżnił gatunki charakterystyczne dla planktonu Morskiego Oka.

Największy wkład do znajomości planktonu Tatr wniosły prace prof. Jadwigi Wołoszyńskiej, która badała plankton jezior i młak tatrzańskich w latach od 1913 do 1939.

Z pięciu jej prac o planktonie Tatr, trzy poświęcone są bruzdnicom, które są ważnym i charakterystycznym składnikiem planktonu jezior i młak tatrzańskich. W pracach swych opisała autorka nowe rodzaje i gatunki bruzdnic. Warto zaznaczyć, że prof. Wołoszyńska opierała swe badania na materiale żywym, a u niektórych gatunków badała całe cykle rozwojowe. Tematem jej badań był nie tylko plankton letni, ale również zimowy. W wyniku swych obserwacji wydzieliła dwie grupy jezior, mianowicie takie, w których rozwija się plankton letni i plankton zimowy, oraz takie, w których planktonu zimowego brak. W planktonie zimowym bruzdnice są również ważnym składnikiem.

W pracy pośmiertnej prof. Wołoszyńskiej (1952) zestawiono listę 40 gatunków bruzdnic z Tatr i Karpat Wschodnich, wśród których autorka opisała wiele nowych gatunków i odmian. Spis gatunków zaopatrzony jest w XVII tabel, zawierających świetne, oryginalne rysunki.

Jedna z prac prof. Wołoszyńskiej (1939) poświęcona była gatunkom rodzaju *Mallomonas*, które podobnie jak bruzdnice są ważnym i stałym elementem planktonu roślinnego w Tatrach. Występują one zarówno w jeziorach nisko, jak i wysoko położonych, małych i dużych, jednakże pomimo wielkiego rozpowszechnienia w Tatrach nie należą do form panujących. Najbujniej rozwijają się w wielkich i głębokich jeziorach oligotroficznych.

Interesujące badania przeprowadziła też Wołoszyńska (1934) nad *Asterionella formosa*, która w jeziorach tatrzańskich tworzy formę o falisto wygiętych pokrywach. *Asterionella formosa* var. *tatrica* Woł. żyje tylko w kilku wielkich i głębokich jeziorach Tatr Wysokich.

Oprócz wymienionych autorów, w Tatrach pracowało wielu innych badaczy. Prace ich jednakże nie wiążą się bezpośrednio z tematem niniejszego opracowania.

METODYKA PRACY

Materiał do badań planktonu wyżej wymienionych stawów zbierano systematycznie w ciągu jednego sezonu wegetacyjnego. Czas pobierania prób trwał od 19.IV do 25.IX 1956 r.

Próby pobierano siatką planktonową z szwajcarskiej gazy młynarskiej nr 25 w ten sposób, że każda próba jakościowa zawierała osad z 5 rzutów siatką na odległość około 15 m. Materiał pobierano za każdym razem dwukrotnie celem uzyskania dwu jednakowych prób. Jedną przyniesioną z terenu w termosie badano na żywo, drugą utrwalano mieszaniną alkoholu metylowego z formaliną w stosunku 3:1. Ponieważ ilość organizmów spotykanych w pobranym materiale była mała, zagęszczano go przy pomocy ręcznej wirówki.

Obraz składu planktonu, odtworzony na podstawie w ten sposób zebranego materiału, jest fragmentaryczny i należałoby go uzupełnić przy pomocy prób uzyskanych przez odwirowanie dużej ilości wody, pobranej co najmniej w kilku punktach jeziora i na różnej jego głębokości.

Równocześnie mierzono temperaturę wody i powietrza oraz określano pH używając do tego celu wskaźnika Czensnego.

SKŁAD FLORYSTYCZNY PLANKTONU BADANYCH JEZIOR

W materiale zebranym do badań jakościowych planktonu z 11 jezior tatrzańskich oznaczono 125 gatunków i 15 odmian. 25 form udało się określić tylko do rodzaju. Niektóre z nich reprezentowane są przez kilka nie określonych bliżej gatunków. Oznaczono je jako „sp. div.".

Schizomycetes

Bakterie badane za pomocą mikroskopu, bez sporządzania kultur, reprezentowane były tylko przez 1 gatunek: *Lamprocystis roseo-persicina*. Bakteria ta występowała w kwietniu w Toporowym Stawie.

Cyanophyceae

W badanych jeziorach znaleziono mało gatunków sinic. Najczęściej występowała *Merismopedia glauca*, szczególnie często znajdowano ją w planktonie stawu Smreczyńskiego (od maja do sierpnia włącznie). Dru-

gi gatunek tego rodzaju *M. elegans* znaleziono pod koniec sierpnia w Litworowym i Czerwonych Stawach oraz we wrześniu w Zielonym Stawie Gąsienicowym. Z innych gatunków należy wymienić *Chroococcus turgidus,* który występował od kwietnia do maja w Stawach Smreczyńskim i Toporowym. W Toporowym znaleziono również *Microcystis pulverea,* var. *incerta.* Pozostałe oznaczono tylko do rodzaju; wśród nich najczęściej występowały nici *Oscillatoria sp.* i *Phormidium sp.* Interesujący jest gatunek *Cylindrospermum minimum?,* który znaleziono w Zmarzłym Stawie położonym na wysokości 1785 m w dniu 22 września. Oznaczenie tego gatunku, jednak nie jest pewne, gdyż wykonane zostało na postawie jednej nici, którą znaleziono tylko jeden raz. Gdyby oznaczenie udało się potwierdzić, mielibyśmy w Zmarzłym Stawie wysokogórski gatunek sinicy, którą Geitler (1932) podaje z centralnych And. Gatunek ten żyje tam w wodach stojących na wysokości 2300 m. *Cylindrospermum minimum* podaje również Prescot ze Stawu Wisconsin (1951) jako gatunek rzadki. Nitka tej sinicy występowała wśród nielicznych organizmów żywych. Towarzyszyły jej drobne okrzemki, oraz wrotki.

Euglenophyceae

Reprezentowane są tylko przez 3 gatunki. Dwa z nich to pospolite gatunki rodzaju *Trachelomonas* (*T. hispida* i *T. volvocina*) występujące w Stawie Toporowym oraz *Euglena acus,* która pojawiała się sporadycznie również w Stawie Toporowym.

Chrysophyceae

W stawach tatrzańskich złotowiciowce występowały zarówno w postaci cyst (ryc. 1-7), jak i w stadiach wegetatywnych. Średnica cyst wynosiła 7,56—16 μ.

Najbujniej wśród złotowiciowców rozwinął się *Dinobryon pediforme,* który w stawie Smreczyńskim występował przez cały okres badań tworząc razem z różnymi gatunkami bruzdnic długotrwały zakwit.

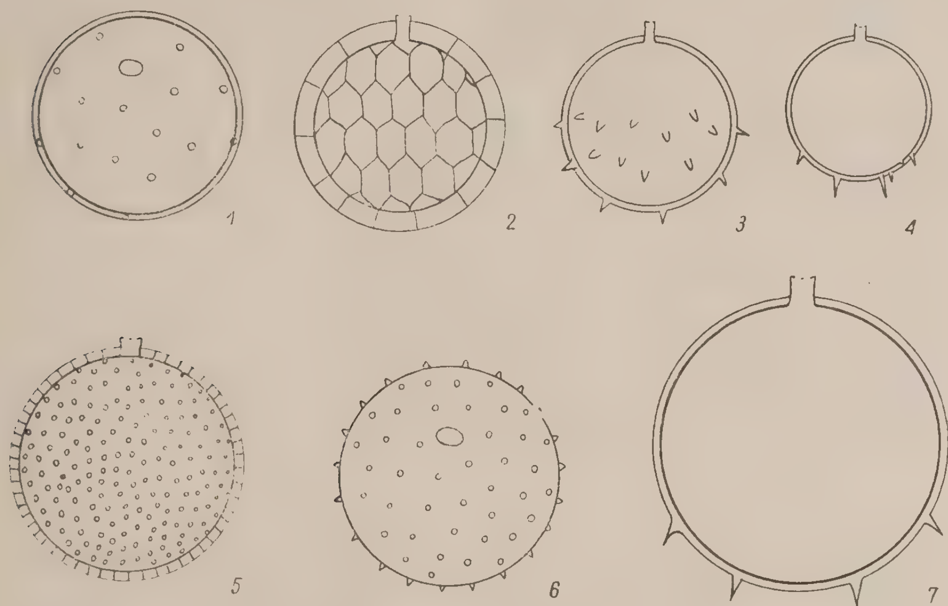
Wymiary okryw celulozowych tego złotowiciowca były następujące:

długość wahała się od 27,52 μ — 37,5 μ
szerokość zaś od 6,88 — 9,4 μ
średnica cyst wynosiła 11,7 μ

Cysty w największych ilościach wytworzyły się w połowie lipca.

Drugi gatunek rodzaju *Dinobryon* — *D. cylindricum* var. *palustre* występował w niewielkich ilościach w okresie letnim w stawach Dwoistych i Litworowym.

Dinobryon sertularia i *D. bavaricum* znaleziono tylko raz, pierwszy w Stawie Smreczyńskim, drugi w Czarnym Stawie Gąsienicowym. *Dinobryon bavaricum?* oznaczono na podstawie tylko jednej kolonii, toteż oznaczenie powyższe należy uważać za niepewne. Nie jest wykluczone, że był to *D. divergens*, który tworzy w czystych górskich wodach luźne kolonie i posiada wydłużone okrywy (K r i e g e r).



Ryc. 1—7. Cysty złotowiciowców występujących w stawach tatrzańskich

Dinophyceae

Rodzaj *Peridinium występował* obficie w Stawach Smreczyńskim i Toporowym przez cały okres badań. Reprezentowany był co najmniej przez kilka gatunków, które ujmowano razem i określano jako *Peridinium* sp. div. Nie opracowano niestety dokładniej systematyki tego rodzaju, gdyż wymaga ona specjalnych studiów (por. W o ł o s z y ń s k a 1919, 1935, 1937, + 51—52).

W innych stawach (Czarny Gąsienicowy, Kurtkowiec i Litworowy Staw) rodzaj *Peridinium* znajdowano sporadycznie (w lecie).

W znacznie mniejszych ilościach występował pospolity gatunek *Ceratium hirundinella*. Znaleziono go w stawach: Toporowym, Smreczyńskim, Czerwonych, Kurtkowcu oraz w Dwoistych.

Bacillariophyceae

Okrzemki występowały w stawach tatrzańskich w największej ilości gatunków. Oznaczono 64 gatunki i 9 odmian, a 6 zdołano określić tylko do rodzaju. Trzeba zaznaczyć, że większość okrzemek oznaczonych tylko do rodzaju posiadała więcej niż 1 gatunek, co oznaczono w tekście skrótem „sp. div.“.

Niewątpliwie najbardziej interesujące są te gatunki, które za Hustedtem (1930) nazwano elementem północnoalpejskim. W badanym materiale było takich 5 następujących gatunków.

Achnanthes marginatula

Znaleziono go w Stawach Zmarzłym i Litworowym w próbach pobranych w dniu 27.VIII i 28.VIII. Gatunek ten dotąd rzadko obserwowany. Z Tatr podaje go Gutwiński z Czarnego Stawu Gąsienicowego oraz z Małego Stawu w Dolinie 5 Stawów Polskich.

Diatoma hiemale

Występowała w planktonie letnim (24.—28.VIII) w Stawach Smreczyńskim, Czarnym, Zmarzłym oraz Dwoistych.

Na badanym obszarze występowała również var. *mesodon*. Była ona także składnikiem planktonu letniego (lipiec, sierpień) w stawach Zielonym, Czarnym, Zadnim i Litworowym, Czerwonych oraz Dwoistych.

Należy zaznaczyć, że w sierpniu w Czarnym Stawie Gąsienicowym, w miesiącu, w którym występowały duże skupiska *Diatoma hiemale*, komórki ich różniły się nieco wielkością od opisanych przez Hustedta. Mianowicie badane komórki były szersze. Szerokość ich wynosiła 9,24 μ — 16,8 μ, podczas gdy Hustedt dla tego gatunku podaje szerokość wynoszącą 7—13 μ. Także ilość żeberek była większa. Wynosiła ona 2,5—4,7/10 μ, podczas gdy Hustedt podaje 2—4 μ. Wskazywałoby to na większą zmienność *Diatoma hiemale* niż dotąd obserwowano.

Diatoma hiemale jest gatunkiem żyjącym w wodach zimnych, pospolitym w źródłach, potokach i kałużach północnej Europy i Alp. Występuje także w górach środkowej Europy. Często pojawia się masowo.

Diatoma hiemale var. *mesodon* jest również w górach bardzo pospolitym gatunkiem, który występuje także i na niżu, szczególnie w wodach płynących.

Z Tatr, gatunek ten i jego odmianę podaje Gutwiński z wielu stanowisk.

Didymosphaenia geminata

Ten przepiękny i rzadki gatunek znaleziono w Litworowym Stawie w sierpniu w próbie z dnia 27.VIII. W tym czasie w wyżej wymienionym stawie występowały liczne gatunki okrzemek. Oznaczono wtedy 23 gatunki, z których przykładowo wymienię: *Melosira distans, M. italica, Diatoma hiemale* var. *mesodon, Pinnularia episcopalis* var. *brevis* i inne.

Wśród nich występowała także *Achnanthes marginulata.*

Długość pancerzyka *Didymosphaenia geminata* wynosiła 120 μ, szerokość zaś 34,4 μ — ilość kresek około 10/10 μ, zaś ilość kropek w prążku 9/10 μ.

Didymosphaenia geminata jest gatunkiem rzadkim. występującym w północnoalepskich jeziorach.

Z Polski podawana była tylko przez H. Wysocką z Dunajca k. Czorsztyna (1957). Gatunek ten występował tam razem z gatunkami żyjącymi w potokach górskich oraz przedstawicielami tych, które za Kolkwitzem i Marsonem zaliczamy do oligo- i mezosaprobów.

Eunotia suecica

Występowała w Zadnim Stawie w sierpniu. Długość pancerzyka wynosiła 38,64 μ, szerokość zaś w najszerszym miejscu okrywy = 12,6 μ, na biegunach natomiast 8,4 μ — 9,24 μ. Ilość prążków = 10/10 μ.

E. suecica jest gatunkiem północnoalpejskim. W Europie północnej rozpowszechniona i nierzadka.

Eunotia robusta var. *tetraodon*

Występowała w lipcu w Zielonym i Czerwonych Stawach Gąsienicowych. Wymiary komórki były następujące: długość = 34,84—35,48 μ, szerokość = 13,74—16,8 μ. Ilość prążków = 10/10. Skulptura prążków była punktowano-kreskowana.

Eunotia robusta jest również gatunkiem głównie północnoalpejskim, rozpowszechnionym i częstym w północnej Europie. Na pozostałym obszarze Europy pospolita w górach.

E. robusta var. *tetraodon* jest bardzo rzadka.

Kilkunastugatunkową grupę stanowią okrzemki rozwijające się głównie w górach. Większość z nich to gatunki wyłącznie wysokogórskie albo takie, które w górach występują szczególnie często, a na niżu pojawiają się zwykle pojedynczo i o wiele rzadziej.

Należą do nich następujące gatunki:

Achnanthes flexella, Eunotia bigibba, E. praerupta, E. valida, Gomphonema longiceps, G. longiceps var. *montana, Melosira distans, M. italica* var. *valida, M. italica* subsp. *subarctica, Pinnularia leptosoma, P. lata, P. episcopalis* var. *brevis, P. divergens, P. dactylus, P. viridis* var. *sudetica, P. appendiculata, P. borealis.*

Najwięcej spośród oznaczonych okrzemek to gatunki ubikwistyczne, pospolite zarówno na niżu, jak i w górach w różnego rodzaju wodach. Takich gatunków oznaczono 45 oraz 5 odmian. Są one wymienione z listach gatunków podanych dla poszczególnych stawów w rozdziale następnym.

Xanthophyceae

Występowały w badanym materiale sporadycznie i były reprezentowane tylko przez trzy gatunki: *Botryococcus Brauni, Ophiocytium capitatum* i *O. parvulum.*

Chlorophyceae

Zielenice w badanym terenie występowały obficie. Oznaczono 42 gatuki i 7 odmian, w tym 16 gatunków i 3 odmiany z rzędu *Volvocales i Chlorococcales,* a 26 gatunków i 4 odmiany z grupy *Desmidioideae.* Podobnie, jak w poprzednich grupach część materiału oznaczono tylko do rodzaju. Szczególnie liczne były zielenice znaczone ogólnie „*Chlorophyceae* sp. div." do których zaliczono wszystkie nie oznaczone bliżej gatunki należące do rzędu *Chlorococcales.*

A. *Volvocales* i *Chlorococcales*

Najczęściej występowały pospolite gatunki, żyjące w strefie otwartej wody, choć były i gatunki osiadłe, np. *Palmodictyon viride* i *P. varium.* Niemal wszystkie gatunki występowały sporadycznie lub najwyżej kilkakrotnie, w niewielkiej ilości osobników, z wyjątkiem zielenic znaczonych „*Chlorophyceae* sp. div.". Były to gatunki, których w materiale konserwowanym nie udało się bliżej określić. Najczęściej kolonialne w otoczkach galaretowatych, być może różne stadia rozwojowe rodzaju *Gloeocystis, Gloeococcus* czy *Asterococcus* lub pokrewne. Występowały one obficie w stawach Toporowym i Zielonym oraz w mniejszych ilościach w stawach Smreczyńskim, Czarnym, Czerwonych, Litworowym i Dwoistych.

Spośród innych zielenic występowały także często różne nie oznaczone bliżej gatunki rodzaju *Scenedesmus;* znajdowano je w stawach Toporowym, Smreczyńskim, Litworowym oraz w Czerwonych.

Również częstą zielenicą było *Oedogonium* sp., które kilkakrotnie znajdowano w stawach Toporowym i Litworowym oraz sporadycznie w kilku innych. Niestety zawsze tylko w stadiach wegetatywnych.

B. *Desmidioideae*

Najobficiej reprezentowane pod względem ilości gatunków przez rodzaj *Closterium*, *Euastrum* i *Micrasterias*.

Z rodzaju *Closterium* oznaczono 6 gatunków, wśród których *Closterium setaceum* znajdowano najczęściej. Gatunek ten występował przez cały okres badań w Stawie Toporowym. Towarzyszyły mu również inne nie oznaczone gatunki opisane jako „*Closterium* sp. div.".

Także przez 6 gatunków reprezentowany był rodzaj *Euastrum*. Największa ilość gatunków tego rodzaju występowała w stawach Toporowym i Litworowym.

Rodzaj *Micrasterias*, którego oznaczono 5 gatunków występował głównie w stawach Toporowym i Litworowym. W pierwszym z tych stawów znaleziono 4 gatunki rodzaju *Micrasterias*, wśród których panował *M. rotata*, w drugim natomiast występował tylko *M. papillifera* i jego odmiana var. *glabra*..

Należy podkreślić, że *Netrium* aczkolwiek reprezentowane tylko przez 1 gatunek — *N. digitus* było ważnym i stałym składnikiem planktonu w Stawie Toporowym i Smreczyńskim, niemal przez cały okres badań. Równie często w planktonie Stawu Toporowego występowało *Pleurothaenium trabecula* i jego odmiana var. *rectum*.

Z innych wstężnic częstością występowania wyróżniał się rodzaj *Cosmarium* i *Staurastrum* z nie oznaczonymi bliżej gatunkami.

Z nitkowatych sprzężnic bardzo często występował w różnych stawach rodzaj *Mougeotia* sp., dużo rzadziej *Spirogyra* sp., a nici *Zygnema* sp. znaleziono tylko raz w Stawie Litworowym. Sprzężnice te obserwowano w stadiach wegetatywnych, nigdy nie znaleziono ich zygot.

Phycomycetes

Z glonowców znaleziono dwa gatunki: *Rhisophidium pollinis* na ziarnach pyłku *Pinus mughus* i *Rhisidiomyces ichneumon* na *Euastrum affine*. Obydwa gatunki występowały pod koniec sierpnia w Litworowym Stawie.

Oznaczenia tych gatunków są niestety niezupełnie pewne, mimo że dostępne cechy oglądanych okazów pokrywały się w zupełności z opisami i diagnozą oznaczonych gatunków. Aby się upewnić i potwierdzić powyższe oznaczenia, koniecznie trzeba by sporządzić wodne kultury tych gatunków, w których można by obejrzeć zoosporangia z zoosporami.

CHARAKTERYSTYKA PLANKTONU POSZCZEGÓLNYCH JEZIOR

(od najniżej położonych do najwyżej wzniesionych nad poziom morza)

Toporowy Staw

Należy do grupy stawów podgórskich, jest stawem najniżej położonym wśród polskich jezior tatrzańskich. Leży on na wysokości 1089 m, posiada powierzchnię 0,61 ha i głębokość 0,61 m. (Śliwerski 1934).

W badanym okresie jako najniższą temperaturę wody zanotowano 6,8°C w dniu 8.V.1956, najwyższą natomiast 19°C dnia 14.VII. Temperatura minimalna powietrza = 5°, maksymalna 19,1 C°.

W drugiej połowie kwietnia niemal cały Staw Toporowy był zamarznięty i pokryty śniegiem, zaczęły topnieć zaledwie wąskie przybrzeżne partie. W próbach pobranych z tych miejsc, gdzie temperatura wody wynosiła + 0,2°C, znaleziono po odwirowaniu różne gatunki brudnic, wstężnic i okrzemek.

Wartość pH wahała się od 5,5—6.

W czasie całego okresu obserwacji znaleziono 36 gatunków glonów, 2 odmiany, a 4 oznaczono tylko do rodzaju. Pod względem bogactwa znalezionych gatunków Staw Toporowy zajmuje drugie miejsce wśród badanych jezior. Głównym składnikiem planktonu były wstężnice i zielenice, *Tabellaria flocculosa* oraz bruzdnice. Najczęściej i najobficiej występowały takie gatunki, jak *Netrium digitus, Closterium setaceum* i inne gatunki tego rodzaju, *Pleurothaenium trabecula, Micrasterias rotata, Staurastrum* sp. div., oraz *Cosmarium* sp. div. Również często występowały bruzdnice i zielenice, jednakże w badanym materiale były oznaczone tylko ogólnie (jak to omówiono poprzednio).

Maksimum rozwoju planktonu w tym stawie przypada na miesiąc lipiec i sierpień.

W Stawie Toporowym oznaczono następujące gatunki:

Schizomycetes:

Lamprocystis roseo-persicina (Kütz.) Schröter 19.IV.

Cyanophyceae:

Chroococcus turgidus (Kütz.) Näg. 29.V.
Microcystis pulverea var. incerta. (Lemm.) Crow. 23.VIII.
Merismopedia glauca (Ehr.) Näg. 14.VII.
Nostoc sp. 8.V.

Euglenophyceae:

Euglena acus Ehrenb. 19.IV.
Trachelomonas hispidata (Perty) Stein 2.VIII, 23.VIII.
Trachelomonas volvocina Ehrenb. 12.VIII, 23.VIII,

Chrysophyceae:

Uroglena americana Calk. 8.V.

Dinophyceae:

Ceratium hirundinella Schrank 8.V, 29.V.
Flagellata sp. div. 25.IX.
Peridinium sp. div. 19.IV, 29.V, 19.VI, 2.VIII, 25.IX.

Bacillariophyceae:

Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz. 19.IV, 8.V, 29.V, 18.VI, 14.VII, 2.VIII, 23.VIII, 25.IX. (Gutwiński 1909).
Tabellaria fenestrata (Lyngb.) Ktz. 19.IV, 8.V, 14,VII. (Gutwiński 1909).
Fragilaria crotonensis (Ehr.) Grun. 8.V.
Pinnularia gibba f. *subundulata* Mayer 20.IV.

Xanthophyceae:

Botryococcus Braunii Kütz. 23.VIII, 25.IX.

Chlorophyceae A. Volvocales i *Chlorococcales:*

Eudorina elegans Ehrenb. 23.VIII. Gutwiński 1909.
Gloeocystis ampla Kütz. 29.V.
Palmodictyon viride Kütz. 2.VIII.
Pediastrum araneosum var. *rugulosum* G. W. West 2.VIII.
Pediastrum Boryanum (Turpin) Menegh. 14.VII.
Chlorophyceae sp div. (kol.) 8.V, 18.VI, 14.VII, 2.VIII, 25.IX.
Oedogonium sp. 19.IV, 18.VI, 14.VII, 2.VIII, 23.VIII.
Scenedesmus sp. div. 18.IV, 14.VII, 2.VIII.
Ankistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs. 2.VIII.
Ankistrodesmus spiralis (Turner) Lemm. 2.VIII.

B. Desmidioideae:

Netrium digitus (Ehr.) Itzgs. u. Rothe 19.IV, 8.V, 18.VI, 23.VIII.
Closterium venus Kütz. 23.VIII. (Gutwiński 1909).
Closterium parvulum Näg. 23.VIII. (Gutwiński, 1909).
Closterium setaceum Ehrbg. 19.IV. 8.V, 29.V. 14.VII, 2.VIII. 23.VIII. (Gutwiński 1909).
Closterium sp. div. 19.IV, 29.V, 18.VI, 14.VII, 2.VIII.
Pleurothaenium trabecula (Ehr.) Näg. 29.V, 14.VII, 2.VIII, 23.VIII.
Pleurothaenium trabecula var. *rectum* (Delp.) West. 19.IV, 29.V, 14.VII.
Pleurothaenium trabecula fo. clavatum (Kütz.) W. et G. West 8.V.
Euastrum didelta Ralfs. 29.V, 18.VI, 14.VII. (Gutwiński, 1909).
Euastrum oblongum (Grev.) Ralfs. 14.VII, 2.VIII. (Gutwiński, 1909).
Euastrum verrucosum Ehrb. 29.V.

Euastrum verrucosum var. *alatum* Wolle 23.VIII.
Micrasterias denticulata Bréb. 14.VII.
Micrasterias apiculata (Ehrb.) Menegh. 14.VII, 2.VIII.
Micrasterias rotata (Grew.) Ralfs. 19.IV, 8.V, 29.V, 18.VI, 14.VII.
Micrasterias americana (Ehrenb.) Ralfs. 8.V.
Cosmarium sp. div. 29.V, 18.VI, 2.VIII, 23.VIII.
Hyalotheca dissiliens (Smith.) Breb. 29.V.
Straurastrum sp. div. 29.V, 2.VIII.
Desmidium Swartzii Ag. 29.V, 18.VI.
Mougeotia sp. 29.V, 18.VI, 14.VII, 2.VIII, 23.VIII.

Smreczyński Staw.

Należy również do grupy stawów podgórskich, położony na wysokości 1225,9 m posiada głębokość 5,9 m, oraz powierzchnię 0,72 ha (Śliwerski 1934).

Podczas obserwacji zanotowano najniższą temperaturę wody wynoszącą 7,2°C w dniu 11.V, najwyższą natomiast 17,3°C w dniu 11.VII. Temperatura powietrza wynosiła w tym czasie 3,2°C i 14,8°C. Były to także temperatury powietrza najniższa i najwyższa, jakie zaobserwowano.

Wartość ph = 4,5.

Staw Smreczyński podobnie jak Toporowy w kwietniu był jeszcze zamarznięty i pokryty cienką warstwą śniegu. Nawet przybrzeżne partie w dniu 20.IV były powtórnie zamarznięte. W próbach wody pobranych spod lodu znaleziono *Netrium digitus* wraz z różnymi gatunkami drobnych okrzemek.

W Stawie Smreczyńskim oznaczono 12 gatunków i 6 odmian. Siedem określono tylko do rodzaju.

Charakterystycznym dla planktonu Stawu Smreczyńskiego jest długotrwały zakwit złożony z *Dinobryon pediforme*, wrotków i bruzdnic. Zakwit ten pojawił się w połowie lipca i utrzymywał się do końca września. Skład zakwitu zmieniał się w czasie obserwacji nieznacznie, w sposób następujący:

W lipcu masowo rozwinął się *Dinobryon pediforme* z domieszką *Peridinium* sp. div., drobnych zielenic i *Merismopedia glauca*. W sierpniu zakwit tworzyły *Dinobryon pediforme*, *Peridinium* sp. div. i wrotki. Towarzyszyły im *Tabellaria flocculosa*, *Netrium digitus* i *Merismopedia glauca*. We wrześniu zakwit tworzą nadal *Dinobryon pediforme* i *Peridinium* sp. div. a towarzyszą im następujące gatunki: *Tabellaria flocculosa*, *Scenedesmus* sp. div., oraz inne nie oznaczone bliżej okrzemki.

Występowanie *Dinobryon pediforme* w okresie całego sezonu, w szczególności zaś masowy rozwój od połowy lipca, upoważnia do uzupełnienia wiadomości o Stawie Smreczyńskim podanych przez prof. J. Woło-

szyńską, która staw ten uważa za rzadki przypadek jeziora zamieszkałego prawie wyłącznie przez bruzdnice. Trzeba zaznaczyć, że *Dinobryon pediforme* jest tak samo ważnym składnikiem planktonu jak i bruzdnice, a w czasie zakwitu występował wraz z nimi masowo.

W Stawie tym oznaczono następujące gatunki:

Cyanophyceae:

Chroococcus turgidus (Kütz.) Näg. 20.IV, 19.VI.
Merismopedia glauca (Ehr.) Näg. 29.V, 19.VI, 15.VII, 3.VIII.
Oscillatoria sp. 24.VIII.

Chrysophyceae:

Dinobryon pediforme Lemm. 20.IV, 8.V, 29.V, 19.VI, 15.VII, 3.VIII. 24.VIII, 24.IX.
Dinobryon sertularia E. 19.VI.

Dinophyceae:

Ceratium hirundinella (O. F. M.) Schrank 29.V.
Peridinium sp. div. 20.V, 8.V, 29.V. 15.VII, 3.VIII, 24.VIII, 24.IX.

Bacillariophyceae:

Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz., 20.IV, 8.V. 29.V. 19.VI, 3.VIII, 24.VIII, 24.IX
Diatoma hiemale (Lyngb.) Heib. 24.VIII.
Eunotia pectinalis var. minor (Kütz.) Rab., 29.V. (Gutwiński 1909).
Eunotia arcus Ehr. 29.V. (Gutwiński 1909).
Frustulia rhomboides var. *saxonica* (Rabh.) de Toni, 29.V. (Gutwiński 1909).
Caloneis silicula var. *truncata* Grun., 29.V.
Pinnularia interrupta W. Smith, 29.V.
Pinnularia interrupta fo. *minutissima* Hust., 29.V.
Pinnularia viridis var. *sudetica* (Hilse) Hust. 20.IV.
Surirella sp., 8.V.

Chlorophyceae: A. Volvocales i *Chlorococcales.*

Gloeocystis sp., 19.VI.
Chlorophyceae sp. div. (kol.), 29.V., 19.VI, 15.VII.
Scenedesmus acutiformis (Schröder), 29.V.
Scenedesmus sp. div., 20.IV, 29.V, 24.IX.
Tetraëdron minimum (Al. Braun) Hansg., 29.V.

B. Desmidioideae:

Netrium digitus (Ehr.) Itzigs. u. Rothe 20.IV, 29,V, 19.VI, 3.VIII, 24.VIII, (Gutwiński 1909).
Closterium sp. div. 20.IV.
Staurastrum sp. div. 20.IV, 19.VI.
Spirogyra sp. 9.VI.
Mougeotia sp. 20.IV.

Litworowy Staw

Wśród stawów Doliny Stawów Gąsienicowych najniżej położonym (1618 m. nad poziom morza) i jednym z najmniejszych jest Litworowy Staw. Powierzchnia jego wynosi 0,48 ha, a głębokość 1,1 m (Świderski 1934).

Obserwacje w Dolinie Stawów Gąsienicowych przeprowadzono tylko w miesiącach lipcu, sierpniu i wrześniu, gdyż w pozostałych miesiącach stawy te były trudno dostępne z powodu śniegu i niebezpieczeństwa lawin.

W tym czasie zanotowano najniższą temperaturę wody we wrześniu, wynoszącą 5,2°C, i najniższą temperaturę powietrza wynoszącą 9,9°C. Woda była najcieplejsza w lipcu i pierwszej połowie sierpnia, kiedy temperatura jej wynosiła 13,4°C. Maksymalną temperaturę powietrza wynoszącą 16°C zanotowano w dniu 27.VIII.

Wartość pH = 6.

W Litworowym Stawie znaleziono największą ilość gatunków. Oznaczono ich 54, 4 odmiany a 11 określono tylko do rodzaju. W planktonie tego stawu dominowały okrzemki (30 gatunków i 2 odmiany) oraz wstężnice (15 gatunków i 2 odmiany). Przedstawiciele innych grup występują w znacznie mniejszych ilościach. Większość tak licznie reprezentowanych w tym stawie okrzemek to gatunki bentosowe i poroślowe, które do strefy wolnej wody dostały się z dna, i roślin rosnących na obrzeżu. W tym stawie znaleziono również bardzo interesujący gatunek *Didymosphaenia geminata*, który omówiono dokładniej w poprzednim rozdziale.

Plankton w tym stawie najbujniej był rozwinięty w sierpniu, szczególnie pod koniec miesiąca. Znaleziono w tym czasie największą ilość gatunków. Natomiast w lipcu i we wrześniu występowało ich nieporównanie mniej. Wskazywałoby to na niezmiernie krótki okres wegetacji w Stawie Litworowym, przypadający tylko na najcieplejsze miesięce letnie, z maksimum w środku lata.

W stawie tym oznaczono następujące gatunki:

Cyanophyceae:

Merismopedia glauca (Ehr.) Näg. 6.VIII, 27.VIII.
Merismopedia elegans E. Braun, 27.VIII.
Plectonema sp., 6.VIII.

Chrysophyceae:

Dinobryon cylindricum var. *palustre* Lemm., 6.VIII. (Gutwiński 1909).

Dinophyceae:

Peridinium sp., 11.VII.

Bacillariophyceae:

Melosira italica (Ehr.) Kütz., 27.VIII.
Melosira distans (Ehr.) Kütz. (Gutwiński 1909).
Cyclotella Kützingiana var. *planetophora* Fricke, 6.VIII.
Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz. 6.VIII, 27.VIII. (Gutwiński 1909)..
Diatoma hiemale var. *mesodon* (Ehrb.) Grunow, 6.VIII.
Meridion circulare var. *constricta* (Ralfs.) van Heurck, 27.VIII.
Fragilaria brevistriata Grun., 6.VIII.
Fragilaria capucina Desm., 6.VIII, 27.VIII.
Eunotia pectinalis var. minor (Kütz.) Rabh., 27.VIII.
Eunotia diodon Ehr., 6.VIII.
Eunotia exigua var. *bidens* Hust., 27.VIII.
Cocconeis pediculus Ehr., 6.VIII.
Achnanthes marginulata Grunow, 28.VIII.
Achnanthes kryophila Petersen, 6.VIII.
Frustulia rhomboides var. *saxonia* (Rabh.) de Toni, 6.VIII. (Gutwiński 1909).
Caloneis silicula (Ehr.) Cleve, 6.VIII.
Strauroneis phoenicenteron Ehr., 27.VIII.
Strauroneis anceps Ehr., 6.VIII, 27.VIII.
Stauroneis anceps f. *gracilis* (Ehr.) Cleve, 6.VIII.
Navicula gracilis Grun., 6.VIII.
Pinnularia molaris Grun., 6.VIII.
Pinnularia subcapitala var. *Hilseana* (Janisch) O. Müll., 28.VIII.
Pinnularia interrupta W. Smith, 27.VIII.
Pinnularia lata (Breb.) W. Smith, 27.VIII. (Gutwiński 1909).
Pinnularia dactylus Ehr., 6.VIII.
Pinnularia viridis (Nitzsch.) Ehr., 6.VIII, 27.VIII.
Cymbella prostata (Berkeley) Cleve, 27.VIII.
Cymbella ventricosa Kütz., 6.VIII, 27.VIII, (Gutwiński 1909).
Didymosphaenia geminata (Lyngbye) M. Schmidt, 27. VIII.
Gomphonema constrictum var. *capitata* f. *turgida.*, 6.VIII.
Gomphonema longiceps Ehr., 6.VIII.
Gomphonema longiceps var. *montana* (Schun.) Cleve, 6.VIII.

Chlorophyceae A. Volvocales i *Chlorococcales:*

Pandorina morum Bory, 27.VIII.
Pediastrum Boryanum (Turp.) Menegh., 6.VIII. 27.VIII.
Chlorophyceae sp. div. (kol.), 27. VIII, 21.IX.
Oedogonium sp. 6.VIII, 27.VIII, 21.IX.
Scenedesmus quadricauda (Turpin) de Breb., 27.VIII.
Scenedesmus quadricauda var. *quadrispina* (Chod.) G. M. Smith., 11.VII.
Scenedesmus sp. div. 6.VIII, 27,VIII, 21.IX.
Ankistrodesmus spiralis (Turn.) Lemm., 11.VII.

B. Desmidioideae:

Netrium digitus (Ehr.) Itzigs. u. Rothe, 21.IX.
Closterium libellula var. *interruptum* (West) Donat, 27.VIII.
Closterium rostratum Ehrb., 27.VIII.

Closterium cynthia var. *Jenneri* (Ralfs.) Krieger, 27.VII.
Pleurothaenium sp., 6.VIII.
Tetmemorus granulatus (Breb.) Ralfs., 27.VIII.
Euastrum didelta Ralfs., 27.VIII.
Euastrum affine Ralfs., 27.VIII, 21.IX.
Euastrum oblongum (Grev.) Ralfs., 6.VIII, 27.VIII.
Euastrum elegans (Breb.) Kütz., 27.VIII.
Euastrum verrucosum Ehrb., 27.VIII.
Micrasterias papillifera Breb., 27.VIII, 21.IX.
Micrasterias papillifera Breb. var. *glabra*, 27.VIII.
Cosmarium Meneghini Breb., 6.VIII.
Cosmarium sp. div., 11.VII, 27.VIII.
Hyalotheca dissiliens (Smith.) Breb., 6.VIII, 21.IX.
Gonatozygon Brebissonii de By, 6.VIII, 27.VIII.
Staurastrum sp. div., 27.VIII.
Xanthidium antilopaeum (Breb.) Ktz., 27.VIII, 21.IX.
Zygnema sp., 27.VIII.
Spirogyra sp., 27.VIII.
Mougeotia sp., 21.IX.

Phycomycetes:

Rhizidiomyces ichneumon Gobi 27.VIII.
Rhizophidium pollinis (Braun.) Zopf. 27.VIII.

Czarny Staw Gąsienicowy
(pod Kościelcem)

Położony na wysokości 1619,6 m nad poziom morza, posiada powierzchnię 17,79 ha i głębokość 51 m.

Najniższą temperaturę wody zanotowano w dniu 10.V.56, wynosiła ona wtedy 0,4°C. W tym czasie Czarny Staw był jeszcze częściowo zamarznięty, pokryty na powierzchni grubą popękaną warstwą lodu. Temperatura powietrza wynosiła wtedy około 9°C. Plankton pobrany z częściowo odmarzniętej wody był niezmiernie ubogi. W śladzie osadu znaleziono nieliczne organizmy żywe. Były to nici *Tabellaria flocculosa*, *Oedogonium* sp. i *Phormidium* sp.?, oraz drobne okrzemki i cysty bliżej nie określone. Najwyższą temperaturę wody wynoszącą 11,2°C zanotowano w dniu 7.VIII., powietrza zaś 18,1°C także w tym samym dniu.

Wartość pH wahała się od 5,5—6.

Plankton Czarnego Stawu Gąsienicowego był ubogi. W okresie od początku maja do końca września występowały nieliczne, zestawione poniżej rodzaje i gatunki.

W tym stawie nie obserwowano nigdy masowych pojawów ani zakwitów glonów. Spośród znalezionych w największej ilości występowała *Diatoma hiemale*, której duże skupisko wstęg znaleziono z końcem sierpnia.

W Czarnym Stawie oznaczono następujące rodzaje i gatunki:

Cyanophyceae:

Oscillatoria sp., 22.IX.
Phormidium sp., 8.V.

Chrysophyceae:

Dinobryon bavaricum Imhof., 12. VII.

Dinophyceae:

Peridinium sp. div., 12.VII.

Bacillariophyceae:

Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz., 8.V, 7.VIII.
Diatoma hiemale (Lyngb.) Heib., 28.VIII, (Gutwiński 1909).
Diatoma hiemale var. *mesodon* (Ehrb.) Grun., 28.VIII, (Gutwiński 1909).

Chlorophyceae:

A. *Volvocales* i *Chlorococcales*
Gloeocystis planctonica (W. et. S. G. West) Lemm., 7. VIII.
Pediastrum Boryanum (Turp.) Menegh., 28.VIII.
Chlorophyceae sp. div., 7.VIII, 22.IX.
Oedogonium sp., 8.V.
Ankistrodesmus falcatus var. *mirabile* W. u. G. S. West, 12.VII.

B. *Desmidioideae:*

Cosmarium sp. div., 7.VIII.
Staurastrum cuspidatum Breb., 22.IX.
Spirogyra sp., 7.VIII.
Mougeotia sp., 7.VIII.

Dwoiste Stawki

Wzniesione 1657,4 m ponad poziom morza; głębokość w zachodnim Dwoistym wynosi 7,9 m, a powierzchnia 0,90 ha, we wschodnim natomiast głębokość = 9,2 m. a powierzchnia wynosi 1,41 ha. (Śliwerski 1934).

W miesiącach lipcu, sierpniu i wrześniu temperatura wody wahała się od 11,8°C do 13,8°C, a temperatura powietrza od 14,6°C do 22°C.

Wartość pH wynosiła w dniu 11.VII. — 6.

Plankton sieciowy w Stawkach Dwoistych był bardzo ubogi. Występowała w nim niewielka liczba gatunków, które wymieniono poniżej. Wszystkie znaleziono w niewielkich ilościach.

Cyanophyceae:

Chroococcus sp., 26.IX.
Nodularia sp.

Chrysophyceae:

Dinobryon cylindricum var. *palustre* Lemm., 11.VII, 6.VIII, 27.VIII.
Mallomonas sp.

Dinophyceae:

Ceratium hirundinella (O. Fr. M. Schrank), 11.VII, 6.VIII.

Bacillariophyceae:

Diatoma hiemale (Lyngb.) Heib., 27.VIII. (Gutwiński 1909).
Diatoma hiemale var. *mesodon* (Ehrb.) Grunow. (Gutwiński 1909).
Fragilaria virescens Ralfs., 11.VII.
Eunotia praerupta Ehr., 11.VII.

Chlorophyceae:

Chlorophyceae sp. div., kol. 26.IX.
Oedogonium sp., 26.IX.

Desmidioideae:

Closterium sp., 26.IX.
Mougeotia sp.
Spirogyra sp., 26.IX.

Zielony Staw Gąsienicowy

Położony na wysokości 1671,7 m, o powierzchni 3.84 ha i głębokości 15,1 m (Śliwerski 1934).

Temperatura wody wahała się od 7°C do 12.9°C, a temperatura powietrza od 13—20°C.

Wartość pH wynosiła 6—6,5.

W planktonie Stawu Zielonego oznaczono 22 gatunki, 1 odmianę i 6 rodzajów. Plankton ten określić można jako okrzemkowo-wstężnico-zielenicowy z przewagą okrzemek.

Plankton w tym Stawie, podobnie jak i w pozostałych stawach tej doliny, był ilościowo skąpy, nigdy nie obserwowano masowego pojawu żadnego ze znalezionych gatunków.

W Zielonym Stawie oznaczono następujące gatunki:

Cyanophyceae:

Merismopedia glauca (Ehr.) Näg., 6.VIII.
Merismopedia elegans E. Braun, 2.IX. (Gutwiński 1909).

Bacillariophyceae:

Melosira italica (Ehr.) Kütz., 12.VII.
Melosira distans (Ehr.) Kütz., 11.VII.
Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz., 11.VII, 6.VIII, 21. IX. (Gutwiński 1909).
Diatoma hiemale var. *mesodon* (Ehrb.) Grun., 11.VII.
Eunotia robusta var. *tetraodon* (Ehr.) Ralfs.
Achnanthes flexella (Kütz.) Brun., 11.VII.
Achnanthes minutissima Kütz., 11.VII.
Achnanthes sp. div., 11.VII.
Caloneis silicula (Ehr.) Cleve, 11.VII.
Caloneis silicula var. *truncatula* Grun., 11.VII.
Stauroneis anceps Ehr., 11.VII.
Pinnularia interrupta W. Smith, 11.VII.
Cymbella ventricosa Kütz., 11.VII.
Denticula tenuis var. *crassula* (Naegeli) Hust., 11.VII.
Nitzschia sp. div., 11.VII.

Chlorophyceae:

A. *Volvocales* i *Chlorococcales*
Gloeococcus Schroeteri Lemm., 6.VIII.
Pediastrum Boryanum (Turpin) Menegh., 6.VIII. (Gutwiński 1909).
Chlorophyceae sp. div. (kol.), 11.VII, 6.VIII, 27.VIII, 21.IX.

B. *Desmidioideae:*

Closterium sp. div., 6.VIII.
Euastrum verrucosum Ehrb., 27.VIII.
Cosmarium sp. div., 6.VIII, 27.VIII.
Desmidium Swartzii C. A. Agardh., 11.VII.
Xanthidium antilopaeum (Breb.) Ktz., 21.IX.
Mougeotia sp., 21.IX.

Xanthophyceae:

Ophiocytium capitatum Wolle, 11.VII.
Ophiocytium parvulum (Perty) A. Braun, 6.VIII.

Kurtkowiec

Wzniesiony 1686 m ponad poziom morza, o powierzchni 1,56 ha i 4,8 m głębokości.

Najniższą temperaturę wody zanotowano 21.IX., wynosiła ona 9,6°C, najwyższą natomiast 14,1°C w dniu 11.VII.

Temperatura minimalna powietrza wynosiła 11,8°C, maksymalna natomiast 15,2°C.

Wartość pH = 6.

Ilość gatunków glonów, jaką znaleziono w tym stawie, jest mała. Większość ze znalezionych oznaczono tylko do rodzaju. Najobficiej reprezentowane były wstężnice.

Oznaczono następujące rodzaje i gatunki:

Oscillatoria sp., 27.VIII.
Phormidium sp., 6.VIII.

Dinophyceae:

Ceratium hirundinella O. Fr. M., 11.VII, 27.VIII.
Peridinium sp. div., 6.VIII.

Bacillariophyceae:

Fragilaria sp., 27.VIII.

Chlorophyceae:

A. *Volvocales* i *Chlorococcales*
Pediastrum duplex var. *cohaerens*, Bohlin 27.VIII.
Scenedesmus quadricauda var. *quadrispina* (Chod.) G. M. Smith, 27.VIII.
Oedogonium sp., 27.VIII.

B. *Desmidioideae:*

Closterium sp., 27.VIII.
Euastrum oblongum (Gref.) Ralfs., 27.VIII.
Micrasterias sp., 27.VIII.
Cosmarium sp., 27.VIII.
Hyalotheca dissilens (Smith.) Breb., 27.VIII.
Spirogyra sp., 27.VIII.
Mougeotia sp., 27.VIII, 21.IX.

Czerwone Stawki

Zachodni Czerwony Stawek, położony na wysokości 1694 m nad poziom morza, posiada głębokość 1,4 m, a powierzchnia jego wynosi 0,24 ha.

Czerwony Stawek Wschodni jest położony tylko o 1,4 m niżej niż zachodni, jest płytszy i mniejszy (głębokość = 1,0 m, powierzchnia 0,15 ha (Śliwerski 1934).

Wartość pH wahała się od 6 — 6,5.

Pod względem ilości znalezionych gatunków Czerwone Stawki należą do najbogatszych, znaleziono w nich 35 gatunków, 3 odmiany, a 11 oznaczono tylko do rodzaju.

W planktonie Czerwonych Stawków panowały okrzemki (ponad 80% znalezionych gatunków) z nieznaczną domieszką zielenic, wstężnic i sinic.

Oznaczono następujące gatunki i rodzaje:

Cyanophyceae:

Merismopedia elegans E. Braun 27.VIII.
Oscillatoria sp., 21.IX.
Anabaena sp., 21.IX.
Phormidium sp., 11.VII, 27.VIII.

Dinophyceae:

Ceratium hirundinella (O. F. M.) Schrank, 11.VII.

Bacillariophyceae:

Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz., 11.VII.
Diatoma hiemale var., *mesodon* (Ehrb.) Grun., 11.VII.
Fragilaria costruens (Ehrb.), Brun., 11.VII.
Fragilaria construens var. *binodis* (Ehrb.) Brun., 11.VII.
Fragilaria pinnata Ehrb., 11.VII.
Synedra parasitica var. *subconstricta* Mayer, 11.VII.
Eunotia pectinalis (Kütz.) Rabh., 11.VII.
Eunotia robusta var. *tetraodon* (Ehr.) Ralfs, 11.VII.
Eunotia valida Hust., 11.VII.
Cocconeis sp., 11.VII.
Achnanthes flexella (Kütz.) Brun., 11.VII.
Achnanthes minutissima Kütz., 11.VII.
Frustulia rhomboides var. *saxonica* (Rabh.) de Toni, 11.VII.
Caloneis silicula var. *truncatula* Grun., 11.VII.
Stauroneis phoenicenteron Ehr., 11.VII.
Stauroneis anceps Ehr., 11.II.
Stauroneis anceps f. linearis (Ehr.) Cleve, 11.VII.
Navicula pupula Kütz., 11.VII.
Navicula cryptocephala Kütz., 11.VII.
Navicula gothlandica Grun., 11.VII
Pinnularia appendiculata (Agardh.) Cleve, 11.VII.
Pinnularia interrupta W. Smith, 11.VII.
Pinnularia subsolaris (Grun.) Cleve, 11.VII.
Pinnularia divergens W. Smith, 11.VII
Pinnularia gibba f. subundulata Mayer, 11.VII.

Cymbella leptoceros (Ehr). Grun., 11.VII.
Cymbella prostata (Berkeley) Cleve, 11.VII.
Cymbella ventricosa Kütz., 11.VII.
Cymbella naviculiformis Auersw., 11.VII.
Gomphonema acuminatum Ehr., 11.VII.
Nitzschia dissipata (Kütz.) Grun., 11.VII.
Nitzschia palea (Kütz.) W. Smith, 11.VII.
Nitschia sp. div., 11.VII.
Surirella sp. div., 11.VII, 6.VIII.

Chlorophyceae:

A. *Volvocales* i *Chlorococcales*
Gloeococcus Schroeteri Lemm., 11.VII.
Palmodictyon viride Ktz., 27.VIII.
Pediastrum Boryanum (Turpin) Menegh., 27.VIII.
Pediastrum Boryanum var. *undulatum* Wille, 11.VII, 6.VIII, 27.VIII.
Chlorophyceae sp. div., 6.VIII, 21.IX.
Scenedesmus sp. div., 11.VII.

B. *Desmidioideae:*

Closterium sp. div., **6.VIII.**
Euastrum oblongum (Grev.) Ralfs., 27.VIII.
Euastrum sp., 21.IX.
Micrasterias denticulata (Bréb.). 27.VIII.
Cosmarium sp., 27.VIII, 21.IX.
Micrasterias sp., div., 27.VIII.

Długi Staw Gąsienicowy

Wzniesiony 1785,5 m ponad poziom morza posiada powierzchnię 7,58 ha i głębokość 10,6 m.

Najniższą temperaturę wody wynoszącą 5,6°C zanotowano w dniu 21.IX, najwyższą wynoszącą 10,2°C w dniu 29.VIII.

Temperatura powietrza nad Długim Stawem w dniach obserwacji w miesiącu lipcu i sierpniu wahała się od 12—15,2°C.

pH = 6.

Plankton w tym stawie był niezmiernie ubogi (głównie zwierzęcy). Glony znajdowano tylko sporadycznie. Były to *Centronella Reichelti* Voigt? (11.VII), której oznaczenie nie jest pewne, gdyż identyfikowano ten gatunek na podstawie jednego okazu. Oprócz tej okrzemki znaleziono dwie nitkowate sinice. Jedna z nich posiadała nić rozgałęzioną, niestety była już częściowo rozłożona, tak że bliższe oznaczenie było niemożliwe (6.VII). Druga to prawdopodobnie fragment nici *Anabaena* sp. niestety bez heterocyst i arthrospor (21.IX). We wrześniu występowały

jeszcze ziarna pyłku drzew szpilkowych i płone strzępki grzybni. Ponadto w próbach oprócz drobnego tryptonu nie zaobserwowano innych żywych organizmów.

Zmarzły Staw pod Zawratem

Położony na wysokości 1787,9 m nad poziom morza. Głębokość jego wynosi 3,7 m, a powierzchnia 0,28 ha.

Najniższą temperaturę wody wynoszącą 3°C zanotowano w dniu 12 lipca, najwyższą 7,8°C pod koniec sierpnia.

Temperatura powietrza w lipcu i w sierpniu wahała się od 11—18.9°C. pH = 6.

W skład planktonu w Zamarzłym Stawie podobnie jak w Stawie Zadnim wchodziły niemal wyłącznie okrzemki. Oznaczono ich 24 gatunki, 2 odmiany i 1 sp. div. Wszystkie wymieniono poniżej oprócz nich znaleziono również *Oscillatoria* sp. i *Cylindrospermum minimum,* które omówiono w części systematycznej, oraz fragment pancerzyka *Mallomonas* sp. i *Euastrum oblongum* (pół martwej komórki).

Największa ilość gatunków występowała w sierpniu. Określono w tym Stawie następujące gatunki i rodzaje:

Cyanophyceae:

Oscillatoria sp., 12.VII.
Cylindrospermum minimum G. S. West? 22.IX.

Chrysophyceae:

Mallomonas sp., 28.VIII.

Bacillariophyceae:

Melosira italica (Ehr.) Kütz., 12.VII, 28.VIII.
Melosira distans (Ehr.) Kütz., 28.VIII.
Tabellaria flocculosa Roth. Ktz., 28. VIII.
Diatoma hiemale Lyngb./Heib., 28.VIII.
Eunotia pectinalis Ktz. Rabh., 28.VIII.
Eunotia diodon Ehr., 28.VIII.
Eunotia bigibba Kütz., 12.VII, 28.VIII.
Eunotia gracilis (Ehr.) Rabh., 28.VIII.
Achnanthes marginulata Grun., 28.VIII.
Achnanthes lanceolata Breb., 28.VIII.
Achnanthes minutissima, 12.VII, 28.VIII.
Achnanthes minutissima var. *cryptocephala* Grun., 28.VIII.
Achnanthes kryophila Petersen, 28.VIII.

Achnanthes sp. div., 28.VIII.
Caloneis bacillum Grun. Mareschk., 28.VIII.
Neidium iridis var. *diminutum* (Pant.) Wisl. et Kolbe, 28.VIII.
Stauroneis anceps Ehr., 28.VIII.
Pinnularia interrupta W. Smith, 28.VIII.
Pinnularia interrupta f. *minutissima* Hust., 12.VII, 28.VIII.
Pinnularia microstauron (Ehr.) Cleve, 28.VIII.
Pinnularia viridis (Witzsch.) Ehr., 28.VIII.
Cymbella prostata (Berkeley) Cleve, 28.VIII.
Cymbella ventricosa Ktz., 28.VIII.
Cymbella turgida (Gregory) Cleve, 28.VIII.
Gomphonema constrictum Ehr., 28.VIII.
Gomphonema longiceps var. *montana* (Schun.) Cleve, 28.VIII.
Bacillaria paradoxa var. *tumidula* Grun., 28.VIII.

Zadni Staw Gąsienicowy

Najwyżej położony (1851,9 m nad poziom morza) spośród badanych stawów Doliny Stawów Gąsienicowych, a także wśród badanych przeze mnie jezior. Powierzchnia Zadniego Stawu wynosi 0,53 ha, a głębokość 8 m.

Temperaturę minimalną wody, wynoszącą 3°C, zanotowano w dniu 22.IX, maksymalną 8,9°C pod koniec sierpnia.

Temperatura powietrza w lipcu i sierpniu w dniach obserwacji wahała się od 10,2—15,1°C.

pH = 6.

Okres wegetacji w tym stawie był niezmiernie krótki. Organizmy żywe znaleziono tylko w miesiącu sierpniu, natomiast w lipcu i we wrześniu w oglądanych preparatach występował tylko trypton. W skład planktonu wchodziło kilkanaście gatunków okrzemek i nić *Hormidium* sp. Z form zwierzęcych obserwowano wrotki i jaja zwierzęce nie oznaczone bliżej.

W Zadnim Stawie oznaczono następujące gatunki i rodzaje:

Bacillariophyceae:

Melosira italica subsp. *subarctica* O. Müll., 29.VIII.
Tabellaria flocculosa (Roth.) Ktz., 29.VIII.
Diatoma hiemale var. *mesodon* (Ehr.) Grun., 29.VIII.
Eunotia suecica A. Cleve. 29.VIII.
Eunotia praerupta Ehr., 29.VIII.
Eunotia bigibba Ktz., 29.VIII.
Achnanthes sp. div., 29.VIII.
Caloneis silicula (Ehr.) Cleve, 29.VIII.

Neidium iridis var. *diminutum* (Pant. Wisl. et Kolbe), 29.VIII.
Stauroneis anceps Ehr., 29.VIII.
Pinnularia leptosoma Grun., 29.VIII.
Pinnularia microstauron (Ehr.) Cleve, 29.VIII.
Pinnularia borealis Ehr., 29.VIII.
Cymbella prostata (Berkeley) Cleve, 29.VIII.
Cymbella ventricosa Kütz., 29.VIII.

Chlorophyceae:

Hormidium sp., 6.VIII.

WNIOSKI

Porównując dane o planktonie z 11 stawów tatrzańskich, na podstawie materiału zebranego w 1956 roku, można wiadomości o nim krótko podsumować w następujący sposób:

Najbogatszy plankton, jeśli idzie o ilość gatunków, posiadają stawy: Litworowy, Toporowy i Czerwone. W pierwszym i ostatnim stawie dominującą rolę w planktonie odgrywały okrzemki, w Toporowym natomiast w skład planktonu wchodziły głównie wstężnice i zielenice, wśród których pewne gatunki rozwijały się w znacznych ilościach, tak że plankton Stawu Toporowego był bogaty nie tylko jakościowo, ale i ilościowo.

Staw Smreczyński posiadał plankton cechujący się długotrwałym zakwitem, złożonym głównie z *Dinibryon pediforme* Lemm. i bruzdnic, rozwijających się masowo od połowy lipca do końca września.

Niemal zupełny brak planktonu sieciowego stwierdzono w stawie Długim, położonym na wysokości 1785 m, w którym znaleziono tylko 2 nitkowate sinice i 1 okrzemkę.

Pośrednie miejsce zajmują pozostałe stawy, w których rozwinął się ubogi plankton. Ilość gatunków w poszczególnych stawach była różna, maksymalnie osiągnęła liczbę ponad 20 gatunków. Planktonty występowały zwykle w niewielkiej ilości osobników. Najkrótszy okres wegetacji stwierdzono w Zadnim Stawie, w którym plankton (niemal wyłącznie okrzemkowy) występował tylko w sierpniu. W pozostałych stawach Doliny Stawów Gąsienicowych okres wegetacji trwał prawdopodobnie tylko 3 miesiące letnie z nasileniem w sierpniu. We wszystkich stawach tej doliny znajdowano w lipcu i we wrześniu niewiele gatunków, najwięcej występowało ich w sierpniu.

Dłużej trwający okres wegetacji obserwowano w stawach najniżej położonych: Toporowym i Smreczyńskim. W pierwszym z nich maksimum rozwoju planktonu przypadło na miesiąc lipiec i sierpień, w Stawie Smreczyńskim natomiast zakwit *Dinobryon pediforme* Lemm. i bruzd-

nic trwał niemal 3 miesiące. W Stawach tych, już w kwietniu w próbach pobranych spod lodu, lub ledwo odmarzniętej przy brzegu wody, obserwowano żywe glony.

Obserwacje nad planktonem, przeprowadzone w 1956 roku, wskazują na pewną zależność pomiędzy wysokością, na której występuje dane jezioro, a bogactwem jakościowym i ilościowym planktonu oraz długością okresu wegetacji. Mianowicie im wyżej, tym plankton uboższy, a czas trwania okresu wegetacji krótszy. Wraz ze wznoszeniem się nad poziom morza zmienia się również skład jakościowy planktonu, mianowicie znikają bruzdnice, ubywa wstężnic i zielenic, a w planktonie dominują okrzemki.

Instytut Botaniki PAN
w Krakowie

(Wpłynęło 31.III 1960 r.)

SUMMARY

In the period of the latter part of April till the end of September 1956 the samples of plankton for a qualitative analysis were collected in eleven Tatra lakes, i. e. seven lakes in the valley Dolina Stawów Gąsienicowych (Litworowy, 2 Dwoiste, Kurtkowiec, 2 Czerwone, Zielony, Długi and Zadni), the lakes Czarny Staw Gąsienicowy near the peak Kościelec and Zmarzły under the pass Zawrat, and two submountainous lakes, Toporowy and Smreczyński.

It has been established that the material thus secured during one vegetative period included 125 species, 14 varieties and 25 forms of algae the latter being determined only as to their genus, each of which included several species evading a more detailed determination and were marked „sp. div.".

Among the systematic groups, that of the diatoms was the richest with respect to the number of species. Sixty-four species, nine varieties and six sp. div. have been distinguished. They have been divided into three groups. One group representing the northern-alpine element includes the species as follows: *Achnanthes marginulata* Grun., *Diatoma hiemale* (Lyngbye) Heiberg, *Didymosphaenia geminata* (Lyngb.) M. Schmidt, *Eunotia suecica* A. Cleve, *Eunotia robusta* var. *tetraodon* (Ehr.) Ralfs. Another group includes about a score of species which either thrive exclusively in the high mountains or are very common in them. The third group is the most abundant and includes ubiquitous species.

The *Chlorophyceae* took the second place with respect to the number of their species and included forty-two species and seven varieties. Of these, sixteen species and three varieties belonged to the orders *Volvocales* and *Chlorococcales*, and twenty-six species and four varieties to the group *Desmidioideae*. Among the desmids, the genera *Closterium*,

Euastrum and *Micrasterias* abounded in the greatest variety of species. *Netrium digitus* (Ehr.) Rothe and *Pleurothaenium trabecula* (Ehr.) Näg. occurred most often.

Other taxonomic groups numbered few representatives each. The lakes Litworowy Staw (cf. p. 610), Toporowy Staw (cf. p. 606) and Czerwone Stawki (cf. p. 616) are distinguished by the greatest number of species in their plankton, while the most abundant and longlasting „blooms" of algae ware observed on Smreczyński Staw (cf. p. 608).

Długi Staw was the poorest in plankton (cf. p. 618), and there was hardly any net-catchable plankton in it. Other lakes investigated occupy an intermediate position among those discussed above; their plankton included several to twenty-odd species. On the whole, the lakes situated at lower altitudes were the richest in plankton. With the rise of the elevation above sea level the number of species decreased and the qualitative composition of the plankton changed. The dinoflagellates which form an important element in the submountainous lakes disappeared. The higher the altitude the less green algae and desmids occurred in the plankton, and the diatoms predominated.

Among the lakes investigated, Zadni Staw (cf. p. 620) situated at the highest altitude showed the shortest vegetative period and the plankton was established to occur in it only in August.

In the rest of the lakes situated in Dolina Stawów Gąsienicowych, in Zmarzły Staw and also in Czarny Staw near the peak Kościelec the net-catchable plankton occurred only for three months with a maximum in August.

The longest vegetative period was observed in the lakes Smreczyński and Toporowy. Living organisms were encountered there as early as in April near the border of the lake in the water just freed of ice, and even in samples collected under the ice. In Toporowy Staw the development of the plankton was at its maximum in July and August, and in Smreczyński Staw it lasted even longer.

LITERATURA

Cleve-Euler, Astrid; Die Diatomeen von Schweden und Finnland. Bd. II—V. Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlinger. Fjärde Serien.

Geitler L., 1932 *Cyanophyceae*, Rabenhorst's Kryptogamen Flora Bd. 14.

Gutwiński R., 1888, Przyczynek do znajomości okrzemek tatrzańskich, Spraw. Kom. Fizj. A.U. 12.

Gutwiński R., 1895, Prodromus florae Algarum Galiciensis, Rozp. Ak. U. 28.

Gutwiński R., 1909, Prodromus algarum montium Tatrensium, Bull. Inter. dl'Acad. Pol.

Gutwiński R., 1913, Flora i plankton Morskiego Oka, Kosmos 38.

Huber-Pestalozzi, 1938—1955, Das Phytoplankton des Süsswasser. Die Binnengewässer Bd. XV T. I/IV.

Hustedt Fr., 1930, *Bacillariophyta*, Pascher's Süsswasserflora H. 10.

Hustedt Fr., 1930/31, Die Kieselalgen, Rabenhorst's Kryptogamenflora, 7.

Krieger W., 1937, Die Desmidiaceae T. 1, Rabenhorst's Kryptogamen Flora 13 Abt. 1.

Lemmermann E., 1912, *Flagellatae,* Pscher's Süsswasserflora H. 2.

Lemmermann E., Brunnthaler J., Pascher A., 1915, *Chlorophyceae* II. Pascher's Süsswasserflora H. 5.

Pascher A., 1925, Heterocontae, Süsswasserflora H. 11.

Pascher A., 1927, Volvocales, Süsswasserflora H. 4.

Raciborski M., 1885, De nonnulis desmidiaceis novis vel minus cognitis, quae in Poloniae inventae sunt, Pam. Wydz. Mat. Przyr. A.U. 10.

Savicz V. P., 1950, Plantae Cryptogamae. Fasc. VI, Acta Instituti Botanici nomine V. L. Komarovi Academiae Scientiarum.

Savicz V. P., 1951, Plantae Cryptogamae, Fasc. VII, Acta Instituti Botanici nomine V. L. Komarovi Academiae Scientiarum. Fasc. VII.

Schumann I., 1867, Die Diatomeen der hohen Tatra, Verb. d. zool. bot. Gesell. Wien.

Skuja H., 1948, Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden, Symbolae Botanicae Upsaliensis IX: 3.

Smith G. M., 1920—24, Phytoplankton of the Inland Lakes of Wisconsin Part 1 a. 2.

Starmach K., 1957, Stan badań algologicznych w Tatrach, Kosmos „A", 2 (25).

Szaflarski J., 1932, Z badań nad termiką jezior tatrzańskich, Przeląd geograficzny 12.

Szaflarski J., 1934, Obecny stan badań jeziornych w Tatrach, Czas. Przyr. Ilustr. r. VIII.

Śliwerski K., 1934, Pomiar batymetryczny jezior w Tatrach, Wiad. Służby Geogr. 8, Warszawa.

Wołoszyńska J., 1919, Glony stawów i młak tatrzańskich, Cz. I. Rozp. A.U. 18.

Wołoszyńska J., 1925, Przyczynek do znajomości polskich bruzdnic, Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 3 (1).

Wołoszyńska J., 1925, Algologischen Notizen, Folia Cryptogamica 1. Szeged 49/52.

Wołoszyńska J., 1934, *Asterionella formosa* var. *tatrica* n. v. w jeziorach tatrzańskich. Acta Soc. Bot. Pol. 11. Suppl.

Wołoszyńska J., 1935, Die Algen der Tatraseen und Tümpel II. Bull. Int. P.A.U. Kraków.

Wołoszyńska J., 1937, Die Algen der Tatraseen und Tümpel III, Peridineen, Arch. Hydr. i Ryb.

Wołoszyńska J., 1939, Glony jezior i młak tatrzańskich IV. Gat. rodz. Mallomonas w jeziorach tatrz., Acta Soc. Bot. Pol. 16 (1).

Wołoszyńska J., 1951—1952, Brudnice Tatr i Karpat Wschodnich, Acta Soc. Bot. Pol. 21 (2).

Wysocka H., 1957, Próba zastosowania metody płytek szklanych w biologiczno-sanitarnej analizie wody, Prace Instytutu Gospodarki Komunalnej 4 (4).

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

The growth of root cells as the function of time and their position in the root

BY

Z. HEJNOWICZ and P. BRODZKI

There are two closely associated aspects of the elongation of the root: the time course of elongation of its constituent cells and the spatial pattern of the elongation rate or growth distribution in the root. For, obviously, a given course of cell elongation must be associated with a definite growth distribution. However, these associations have not been studied either empirically or theoretically. Brumfield's (1942) work has been the only exception in this regard. He studied the distribution of growth in the apex from data referring to the course of cell growth in the root, but some of his conclusions have been since found unsatisfactory (Hejnowicz 1956). On the other hand, our knowledge about each of these two aspects separately is quite extensive.

The information about the course of cell elongation in roots we owe mainly to Burström's work (cf. review by Burström, 1957). That worker has elaborated a special method which deserves to be considered more closely. The method is based on the assumption that the growth history of the particular cells is recurrent in the statistical sense. This is illustrated in fig. 1. The assumption is undoubtedly justified for roots growing at a uniform rate and characterized by the stability of cell arrangements. From the assumption it follows that the length of the successive cells, each more distant from tip than the preceding one, corresponds to the lengths of one cell measured at equal time intervals. Burström's method consists in that the curve of the dependence of the cell length on time is constructed from length measurements of epidermal cells. For the purpose the lengths of the successive cells in a file are plotted against their consecutive numbers. The time corresponding to one number for the particular type of cells, i. e. the time necessary for the displacement of one cell into the place of the next one, is computed from the average length of the mature (non elongating) cells and the elongation rate of the root. Dividing the full length of cells by the root

elongation rate the desired time for the given type of cells is obtained. The following data are thus necessary for applying Burström's method: the length of successive cells in the investigated kind of tissue, e. g. the epidermis, from the end of the cell division zone to the non-elongating cells inclusive, and the elongation rate of the root.

The results of Burström's investigations on the course of cell elongation in roots of wheat grown in the usual nutrient may be summarized by the graph in fig. 2. As is to be seen a cell which has passed

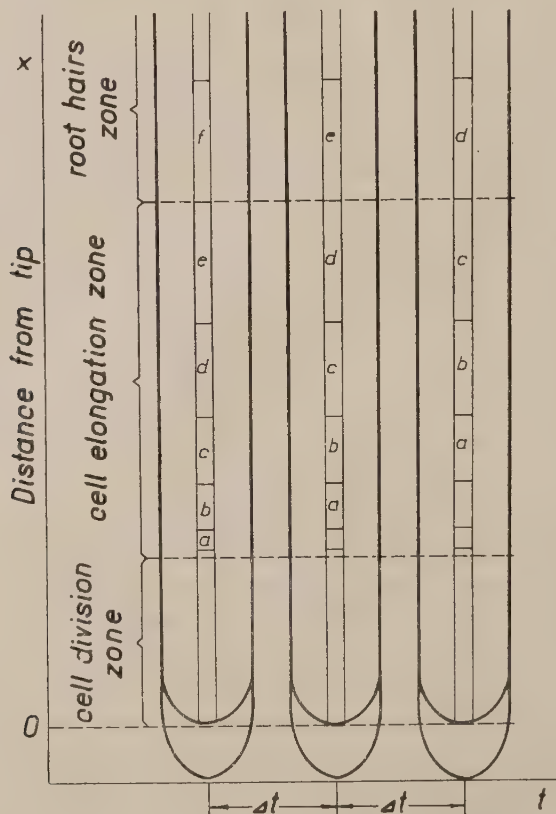


Fig. 1. The root (scheme) with a single file of cells photographed at equal intervals of time Δt. The length of cells in the file is a definite function of the distance from the tip. Thus, the lengths of one cell in succesive equal intervals of time Δt are the same as the lengths of successive cells in the file

from the cell division zone to the elongation zone elongates with an increasing, or at least a constant rate until its elongation is suddenly stopped.

The other aspect of root elongation — the distribution of growth — has been more recently studied by Goodwin et al. (1945, 1956), Erickson et al. (1951, 1956), and Hejnowicz (1956). In these investigations the displacement rate method was applied. It consists in measuring, either by direct microscopic observations (Goodwin et al. 1945, Hejnowicz 1956) or by photographic techniques (Goodwin et al. 1956, Erickson et al. 1951, 1956), the rate at which artificial or natural marks on the root move away from the tip. The graph illustrating the dependence of the displacement rate of points on the distance from the tip (fig. 3) is of fundamental significance for this method. It reflects the distribution of growth, since the inclination of the curve is proportional to the elongation rate in the corresponding sections of the apex. However, a more exact characteristic of growth distribution is provided

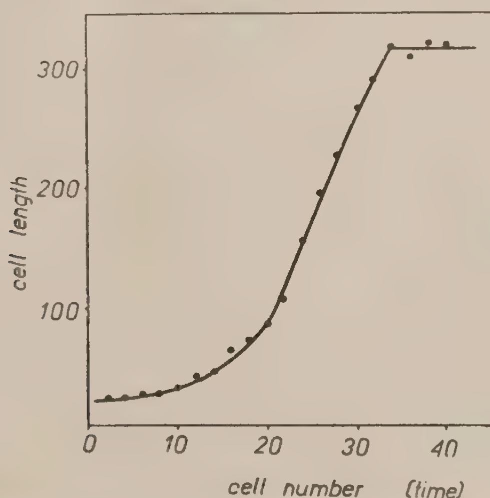


Fig. 2. The elongation curve of root cells according to Burström (1953)

by the first derivative of the displacement rate. The multiplying of the derivative by 100 gives the relative rate of elongation at a given distance from the tip in percentages per unit of time. E. g. when at the distance x the relative elongation rate is 40 per cent the cell situated at that point elongates by 40 per cent of its length in a unit of time.

The results available so far from experiments on growth distribution in roots obtained by means of the displacement method are illustrated in a general manner by the graph in Fig. 3. The relative rate of elongation expressed in percentages is constant in the cell division zone (Hejnowicz 1959). In the elongation zone the relative elongation rate rises at first and then drops as the distance from the tip increases.

Investigations on the changes of growth distribution under the influence of various factors have much significance for understanding the mechanism underlying these changes. For this reason a good knowledge of the growth distribution in normal roots is very important. It also is important for calculating the dynamics of various processes taking place in the apex (Erickson et al. 1951, 1956 b. Hejnowicz 1959).

The researches on the distribution of growth in the root and the course of elongation of root cells discussed above cover various species grown under different conditions. It is thus impossible to presume unconditionally that the course of cell elongation observed by Burström corresponds to the growth distribution reported by other workers (see

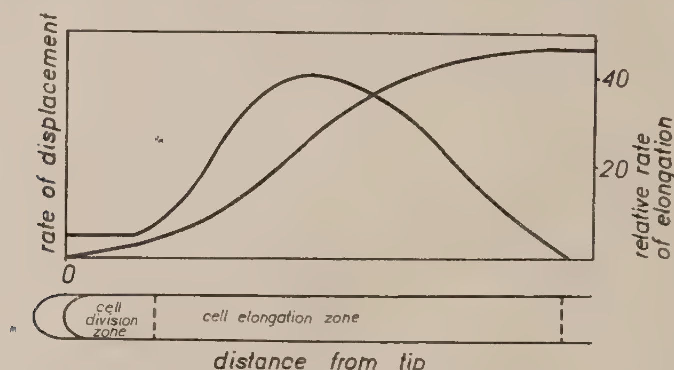


Fig. 3. Generalization of data on growth distribution in roots

Burström, 1957b). In these circumstances the aim of the present work has been to determine the distribution of growth in the root and the course of cell elongation on a comparable material.

For the experiments the rapidly growing roots of young wheat seedlings were chosen. Burström's method and a new variant of the displacement rate method were applied.

Burström's method was changed only in that the length was measured not of epidermal cells but of cortical cells and metaxylem mother cells from the central file. The measurements were made on microtomic sections. The new variant of the displacement rate method differed from the original procedure in that the displacement rate was estimated on basis of cell length measured, similarly as in Burström's method, on sectioned material. These methodic alterations were based on the reasoning that since the cell length is a function of the distance from the tip, as shown in fig. 1, the displacement rate of the transversal cell walls at various distances from the tip has to be proportional to the length of these cells. Indeed, during the time interval Δt the apical transversal walls of a given type of cells situated outside the cell division

zone must be displaced on the average over a distance equal to the length of the cells. When the rate of the root elongation is known the displacement rate of the transversal walls of cells which have already left the elongation zone can be calculated in absolute units. The displacement rate at any point of the elongation zone can subsequently be calculated from the aforesaid proportionality between the displacement rate of cell walls and the length of cells. It is, thus, possible to determine the distribution of growth from the same data as the time course of cell elongation which makes the comparison of the two aspects of root growth all the more reliable.

MATERIAL AND METHODS

The investigations were carried out on the primary and the first two adventitious roots of intact seedlings of wheat var. *Eroica Weibull's* Soaked seeds were germinated on gauze stretched tightly over shallow dishes in such a way that the edges of the gauze dipped in water on all sides. On the second day after germination the seedlings were planted into nontranslucent holders of a culture vessel shadowed with black paper. The vessel contained 300 c. c. of the following nutriet solution: KNO_3 10^{-3}M, $Ca(NO_3)_2$ 2.10^{-3}M, KH_2PO_4 10^{-3}M, Na_2HPO_4 $2.5.10^{-4}$M, $MgSO_4$ 5.10^{-4}M, $MnSO_4$ 2.10^{-5}M, Fe-versenate 2.10^{-5}M. The nutrient was amply aerated by bubbling air. The vessel was kept in a climate chamber at 25°C under continuous light from an incandescent lamp. On the second day after planting when the length of the roots was about 35 mm. the roots of 30 plants were measured, the primary and advetitious roots separately. The culture with the remaining 30 seedlings was kept under unchanged conditions for another 13 hours, when the length of roots reached about 50 mm. The roots were then measured again and their apices, about 8 mm. long, were fixed in Cr-A-F solution. In this way the elongation rate of the roots was determined and at the same time fixed material for further examinations was obtained.

The general traits of the fixed roots were as follows: the average growth rate of the primary and adventitious roots during the 13 hours before fixing was 1.29 and 1.30 respectively and their average length at the time of fixing was 52 and 46 mm. respectively, whereas the root hairs zone started about 5 mm. from the tip.

In a separate experimental series it was found that during the 24 hours preceding and 48 hours following the phase of growth at which the roots were fixed the average elongation rate of roots was constant.

The fixed root tips were transferred to paraffin through tertiary butyl alcohol. The apices were cut on a rotating microtome into series of longitudinal sections 10 μ thick. The sections were stained with tanin +

$FeCl_3$. The length of cells was measured in the second and third layer of the cortex, counting from the outside, and in the central file of metaxylem mother cells. Drawings of the cortical layers from 6 sections from each root were made by means of projection taking for the purpose every third section from the middle of a series. The drawings covered the border between the root cap and the central portion of the root meristem, called in the course of this work the tip. They also show the transversal and longitudinal cell walls in the examined layers outside the cell division zone in these layers. In the case of cortical layers all the sections from one root were drawn on one sheet. On the other. hand, one sheet was used for drawing all the files of metaxylem mother cells from one series of roots. The drawings on one sheet were arranged parallelly to each other and their apical points were placed along a straight „starting“ line. Lines parallel to the „starting“ line divided a sheet into zones of the following widths in the scale of the root (mm): 0.1, 0.1, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0,3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.6, 0.6, 0.6, and 0.6 for metaxylem mother cells and 0.2, 0.2, 0.3, 0.4, 0.4, 0.4, 0.4, 0.4, 0.4, 0.4, 0.4, 0.4, and 0.4 for cortical cells. The first zone became noticeable 0.46 mm. from the tip on sheets showing metaxylem mother cells and 0.92 mm. from the tip on sheets with cortical cells. Using a measure with a suitable scale the total length of all cells in a zone was determined and from the total number of cells in the zone the average length of one cell for that zone was calculated. The length of a zone divided by the average length of the cells gave the average number of cells in the zone and also the consecutive number of the middle cell in the zone. The cortical cell one mm. and the metaxylem cell 0.5 mm. away from the tip were each marked no 0.

The average length of cortical cells was established from a series of 6 primary roots or 10 adventitious roots, and the average length of metaxylem cells from a series of 10 primary or 10 adventitious roots.

The measured lengths of cell were corrected for shrinkage caused by fixation and other treatments necessary to prepare sections: the lengths of cells measured in sections was increased 14 per cent in the zone ranging 0—2 mm., 8 per cent in the zone ranging 2—3 mm. and 5 per cent in the zone above 3 mm. These corrections were based on the results of an earlier investigation on shrinkage (H e j n o w i c z 1959).

The shape of the curves illustrating the length of cells is of decisive significance for the present work. It is to be stressed that details of the shape of the curve are difficult to analyse statistically. However, since this work must be based on „average“ curves for series of roots some information is necessary about their statistical value. It seems that the best way of checking the correctness of an „average“ curve is to compare

it with the curves for the particular roots of the series. Consequently besides the „average“ curve for primary roots also curves for the particular primary roots were plotted.

The interpolations of the curves were made graphically, off hand. When plotting the curves inbetween the points no pre-assumed shape was followed. This method of interpolation seems to be better than mathematical interpolation in which a certain definite character of the function is preassumed. The derivatives were computed graphically.

RESULTS

Distribution of growth

An analysis of growth distribution based on measurements of cell lengths is possible only in that part of the root where no cell divisions take place, i.e. for cortical and metaxylem mother cells at distances from the tip of not less than 0.9 mm. and 0.4 mm. respectively.

One of the reasons why metaxylem mother cells have been chosen for observation is that their division stops when the cells are still within the general cell division zone. Owing to this circumstance the observations could be extended well into the general cell division zone. The dependence of the length of cortical cells with the correction for shrinkage on their distance from the tip is shown in fig. 4. As is to be seen the length of cells increases gradually until the distance from the tip is about 5 mm. The beginning of the horizontal section of the curve, which marks the basal boundary of the elongation zone, corresponds to the beginning of the root hairs zone.

The curves in figure 4 are based on average values calculated for series of roots. To find whether such „average“ curves adequately represent the true state of things in individual roots curves for cell length in the particular primary roots from the series have been plotted in figure 5. The shape of all these individual curves is on the whole similar and resembles the shape of the average curve in fig. 4. The particular roots differ by the length of the elongation zone and the final length of cells. The curves representing the cell lengths as the function of the distance from the tip are equivalent in their shape to the curves of the displacement rate of points, since the average length of cells at certain distance from the tip is proportional to the displacement rate of point at that distance. Thus, a different interpretation of fig. 4 and 5 is also possible: they may be regarded as illustrating the displacement rate of points. In order to represent the displacement rate in any desired

units, e.g. in milimetres per hour, it is enough to know what is the rate of root elongation, because the displacement rate corresponding to the final length of cells equals the rate of root elongation.

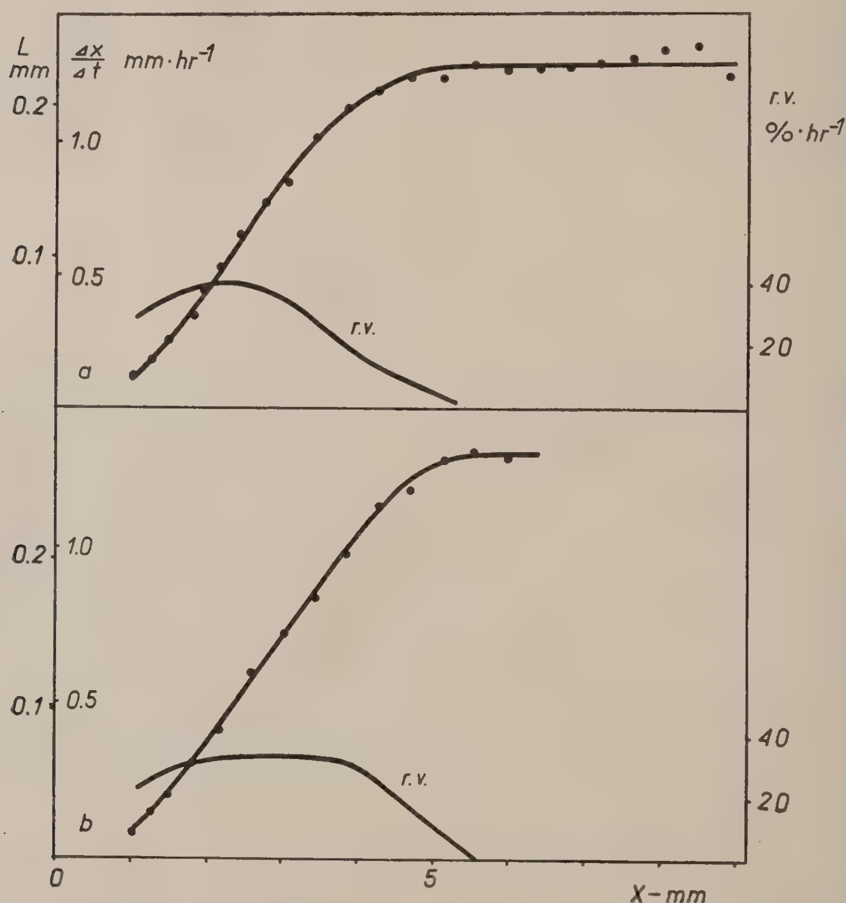


Fig. 4. The length of cortical cells plotted as the function of their distance from the tip (upper curve). The units of length are marked on the left side of the left vertical axis. The cell length courve can be interpreted as the curve of the displacement rate of points. For this purpose the calculated units of the displacement rate are marked on the right side of the left vertical axis. The lower curve reflects the relative elongation rate (r. v): *a* — series of primary roots; *b* — series of adventitious roots

Since the average rate of root elongation was known it has been possible to calculate the displacement rate for the „average" curves. The units of elongation rate determined in this manner are marked on the right side of the left vertical axis in fig. 4.

On the other hand, the elongation rate of the particular roots was not known. In this case, therefore, no determinations have been made of the displacement rate in absolute units. Thus, in the second interpretation the curves in fig. 5 reflect the rate of displacement in undefined units.

As has been already mentioned the derivative with regard to the distance from the tip of the displacement rate, plotted as the function of

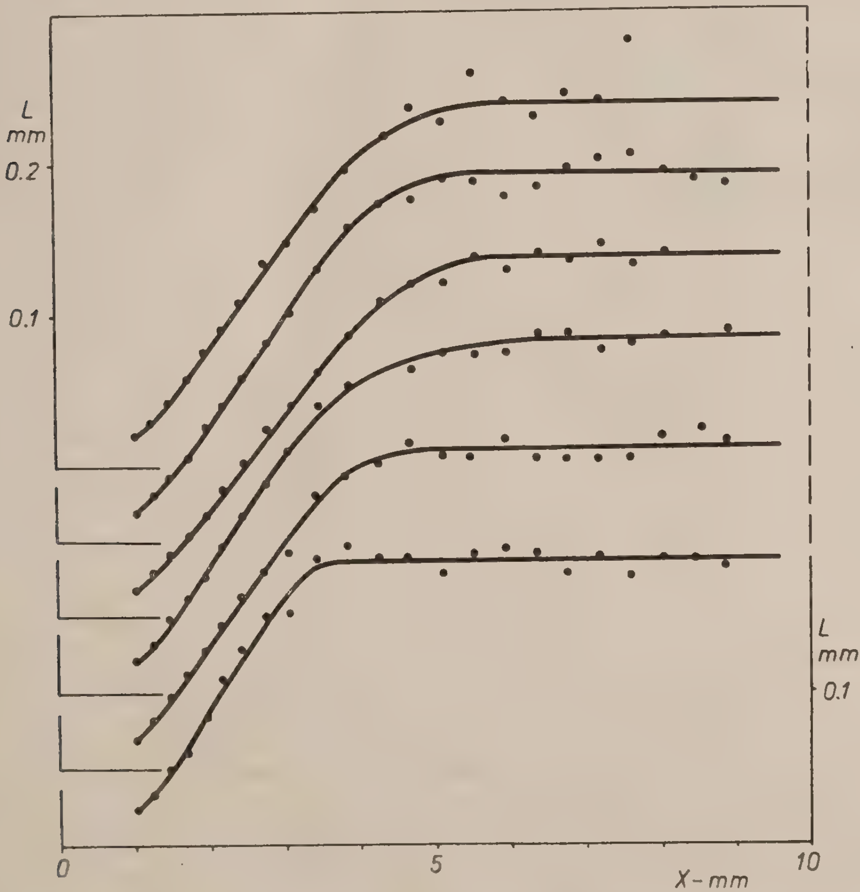


Fig. 5. The length of cortical cells plotted as the function of their distance from the tip for the particular primary roots

that distance, equals the relative displacement rate. Such derivatives have been determined from both the „average“ curves provided with defined units of the displacement rate (lower curve in fig. 4) and the curves for individual roots (fig. 6) without defined units of the displace-

ment rate. Obviously, in the former instance the relative elongation rate is in percentages per hour, whereas in the latter in percentages to some undefined unit of time.

The curves of the relative elongation rate in fig. 4 and 6 are mutually complemental. The ones in fig. 4 inform about the general distribution of growth and about the magnitude of the growth, whereas those in fig. 6 reflect the variations between roots with regard to the shape of the curves of the relative elongation rate.

As is to be seen the maximum of the elongation rate is wide in all cases. The maximum rate of elongation is about 40 per cent per hour. The rate at which the curve drops on the basal side of the maximum depends on the length of the elongation zone; when roots have a longer elongation zone the decrease of the elongation rate is slower and spreads over a longer section of the root. In roots with a shorter elongation zone

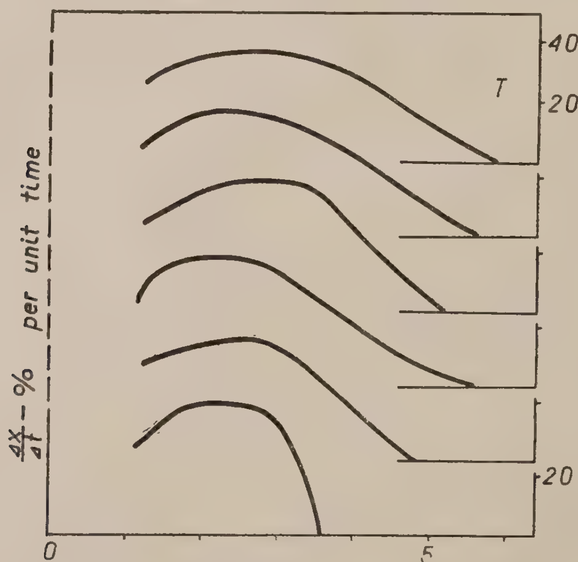


Fig. 6. Derivatives of the curves in fig. 5 complemental in their shape with the curves of the relative elongation in the particular roots

the decrease is more rapid. The shortening of the elongation zone seems to consist in the cutting away of the basel part of the zone without affecting the remaining parts. In the graphs discussed above, plotted for the cortex, the curves begin just outside the cell division zone at a distance of about one mm. from the tip. Even at that distance the relative rate of elongation is high approaching the maximum.

The analogical curves for metaxylem mother cells are shown in fig. 7 and 8. As is to be seen the curves derived from the lengths of metaxylem mother cells are similar to the ones obtained for cortical cells. They introduce no new data on the elongation zone, but partly fill the gap in the information about the apical part of the apex. The relative elongation rate (fig. 7) less than 0.9 mm. away from the tip, i.e. still within the general

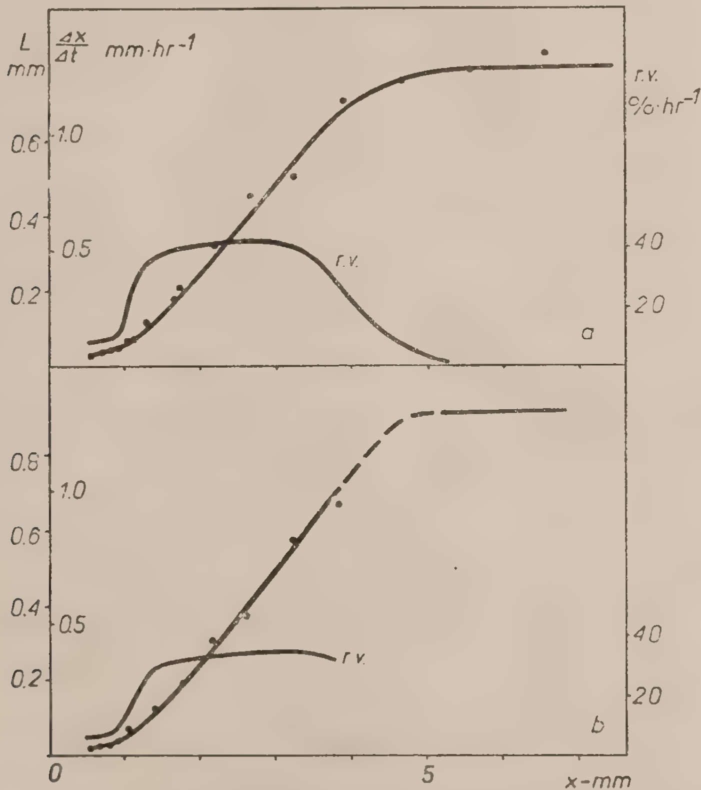


Fig. 7. The same as fig. 4 but for metaxylem mother cells: *a* — series of primary roots; *b* — series of adventitious roots

cell division zone of the root, is low but remains constant. Its sudden increase takes place at the end of the cell division zone, i.e. at the distance of about 0.9 mm. from the tip. To bring out more forcibly the uniformity of the relative elongation rate within the general cell division zone a magnified section from the apical part of the curve reflecting the length of metaxylem mother cells is shown in fig. 8. In the section from 0.5 to 0.9 mm. the lengths of these cells are arranged linearly. This means that

in this section the rate of displacement changes linearly along the straight line; the prolongation of the line stretches approximately to the tip of the root. Thus, the relative rate of elongation in the zone of cell division must be constant.

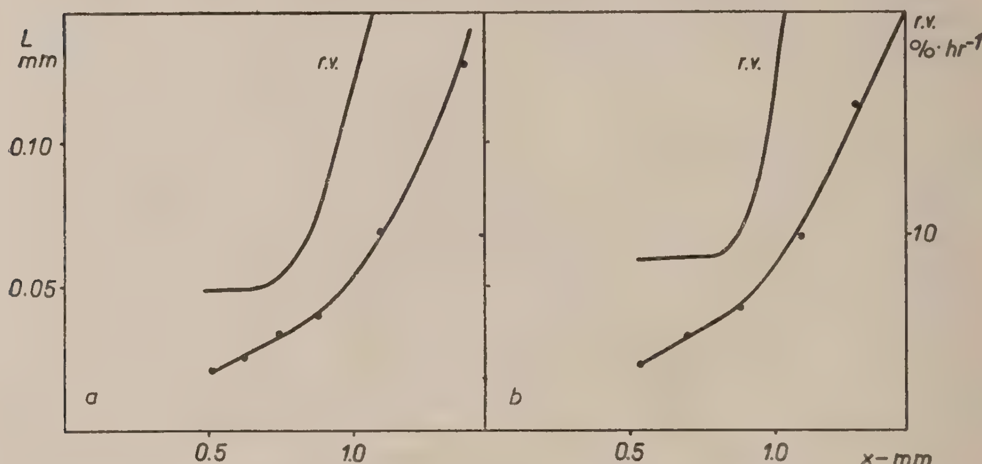


Fig. 8. Fragments of the curve in fig. 7 magnified. The length of metaxylem mother cells in the apical part of the root and the calculated from it relative elongation rate in that part of the root

Summarizing, it can be stated that the following zones of growth can be distinguished in the root apex of wheat:

1) the zone of slow elongation corresponding to the cell division zone,

2) a rather narrow zone of sudden increase of the elongation rate at the and of cell division zone,

3) a wide zone of rapid elongation with weakly marked maximum in the middle, and

4) a zone where the rate of elongation decreases gradually; the length of this zone may differ in various roots.

The course of cell elongation

The length of cells, taking into account the correction for shrinkage, is shown in figs. 9, 10, and 11 as the function of their consecutive number, and thus as the function of time. The cell numbers and the time are marked on the horizontal axes of the graphs, the cell number at the top. The cortical cells and metaxylem mother cells marked no. 0 are those

situated at the distance of respectively 1 and 0.5 mm. from the tip. The axes of time are at the bottom of the graphs, the time corresponding to one cell number has been calculated from the average length of no-

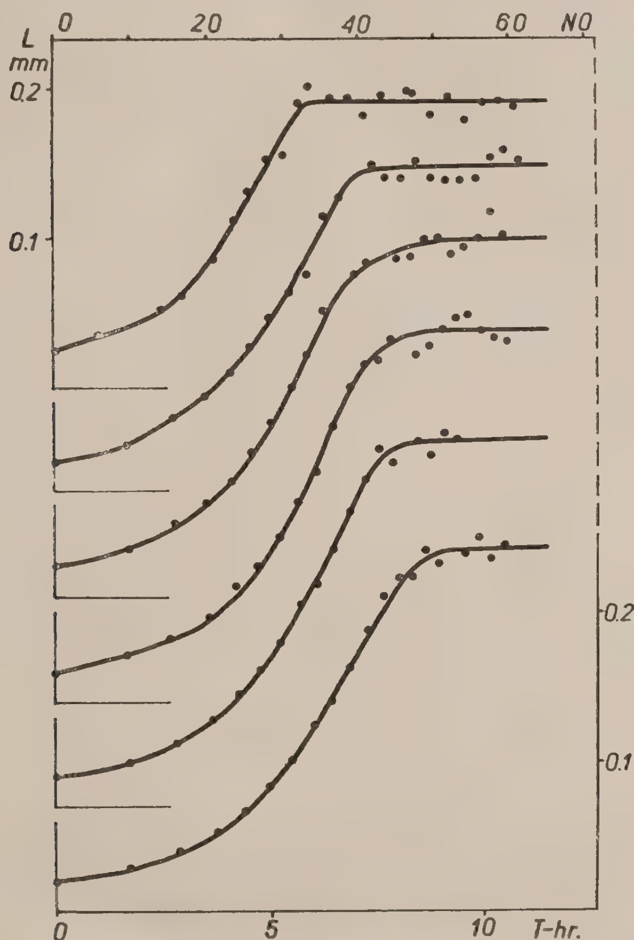


Fig. 9. The length of cortical cells plotted as the function of the consecutive cell numbers (horizontal axis at top of graph) and, thus, also as the function of the time (horizontal axis at bottom of graph). Number O (time O) has been assigned to the cell one mm. away from the apex. The particular curves correspond to single primary roots

elongating cells and the average elongation rate of the roots in the series. The time calculated in this way is marked on the „average" graphs for root series as well as on graphs of the particular roots. In the latter

case the cell numbers should have been transformed into time from the final length of cells and the elongation rate of each root separately. However, the error caused by substituting the average for the individual data seems to be insignificant, in spite of some differences between the final lengths of cells in the particular roots. This is supported by the author's own observations which indicate that the final lengths of cells differ parallelly to the differences in the rate of cell elongation, and the quotient of these two values, giving the value Δt for one cell number, is more or less stable under the same conditions of growth.

The curves illustrating the dependence of cell length on the cell number, i.e. on time, resemble the curves obtained by B u r s t r ö m (1953). The increase of the cell length slow at first, then more and more rapid,

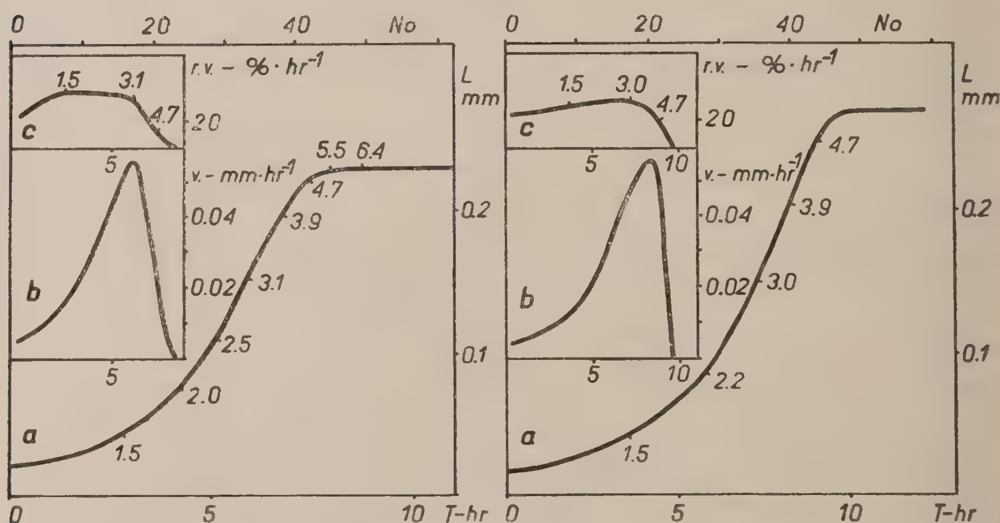


Fig. 10. Curves for series of roots plotted from the lengths of cortical cells. Right — for series of primary roots, left — for series of adventitious roots: *a* — length of cells as the function of time (of cell number); *b* — absolute growth rate of cells; *c* — relative growth rate of cells

finally stops suddenly within a short time. When the results for the roots from one series are compared it is to be seen that the course of growth is similar in all the roots from the series, though there may be some differences in the time that elongation from the initial to the final length lasts.

The shape of the interpolated curves has much significance for the present considerations. Among the more interesting details of the curves are those which are associated with the retardation of cell growth. B u r s t r ö m (1953) suggests that there may be factors which suddenly

stop the elongation running at its maximum rate. This would be reflected by a sharp bend in the curve of the function $1 = f(t)$. On the other hand, it is to be stressed that such a detail in the shape of the curve lies within the limits of statistical error. Without answering the question whether the retardation is sudden or not, the curves in figs. 9, 10 and 11 show that the retardation of growth takes place in a rather short time.

The curve of cell elongation, at the time of the most intense elongation, may appear at first sight to run along a straight line. In other words, it may seem that the elongation rate in that phase is constant. However,

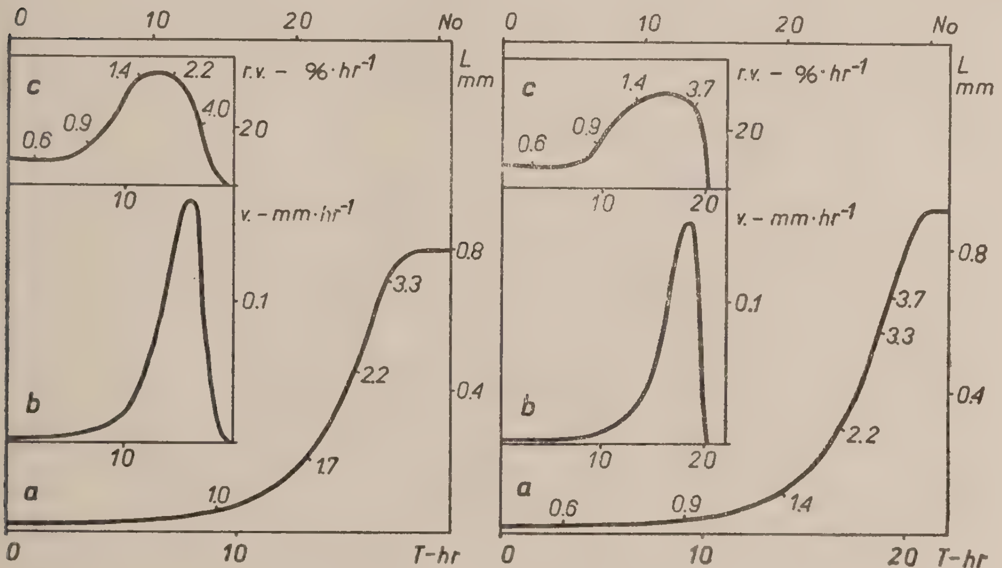


Fig. 11. The same as fig. 10 but for metaxylem mother cells

calculations of the elongation rate of cells at various moments show that the rate changes continuously. The cell elongation rate, i.e. the ratio of the increment of cell length to the increment of time, can be calculated as the tangent slope of the cell elongation curve. The values of the elongation rate are shown by curves *b* in fig. 10 and 11.

As is to be seen the elongation rate of cells increases with time till it reaches a high maximum and then in a short time drops to nought. Another thing apparent from the curves is that the elongation of cells does not fully comply with the grand period of growth proceeding at a gradually decreasing rate after the maximum is passed. This is in agreement with B u r s t r ö m's results.

When the elongation rate of a cell is divided by its length the relative elongation rate is obtained; its values are shown by the curves c in fig. 10 and 11. The relative elongation rate of cells varies within narrow limits over a long period of time from the moment a cell leaves the cell division zone till it almost reaches its final length. This means that the newly formed parts of the cell wall acquire similar growth properties as the properties of the parts formed initially. The same conclusions are

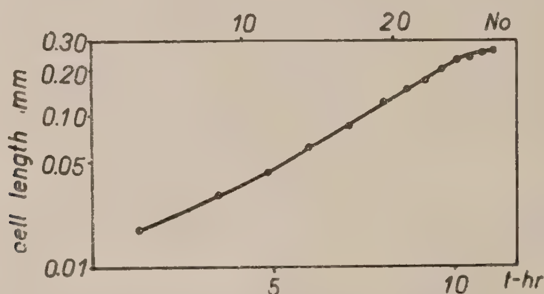


Fig. 12. Logarithms of cell lengths of cortical cells plotted as the function of time for the series of adventitious roots

arrived at by analysing the dependence of the logarithm of the cell length on time (fig. 12). The logarithmic curve forms a straight line from the time that a cell enters the elongation zone almost to the end of elongation when in a short time swings to the horizontal. The curve closely resembles the one obtained by Brumfield (1942) in his experiments on the *Phleum* root. The proportionality of log. 1 to time means that the coefficient of the relative rate of growth is constant over that period of time.

Comparison of the growth distribution and the course of cell elongation

The curves reflecting the distribution of growth and the course of cell elongation discussed above refer to the same plant material. Even the initial data used for plotting them are the same. Thus, the distribution of growth illustrated by the curves in figs. 4,6 and 7 corresponds to the course of cell growth illustrated by the curves in figs. 9, 10 and 11.

One noteworthy problem comes up when these results are compared: the retardation of cell elongation spreads over a rather long section of the root, though it lasts a rather short time. The reason is that a cell is displaced away from the tip at an increasing rate as the distance from the tip becomes greater. As is to be seen from the figures marking the

curves *a* and *c* figs. 10 and 11 a cell remains in the 1—3 mm. zone for 6—7 hours, whereas in the 3—6 mm. zone for 2 hours only. The metaxylem mother cells remain in the 0.5 mm. long section of the cell division zone, when their division has already stopped, just as long as they remain later in the 4 mm. long elongation zone.

It is to be noted that the distribution of growth determined in the course of the present investigation on the roots of wheat is essentially in agreement with the distribution of growth reported for various species by Goodwin and Avers (1956), Erickson and Sax (1956), and Hejnowicz (1956). Nevertheless, there are some differences

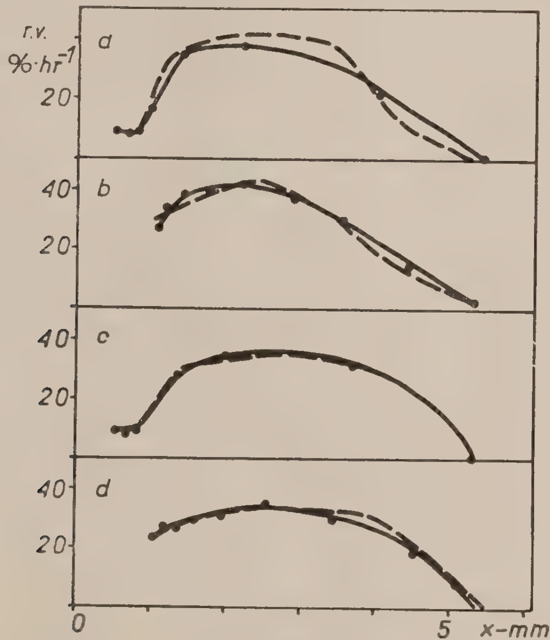


Fig. 13. Relative cell elongation rate plotted as the function of the distance from tip (see text). *a*, *b*, — series of primary roots; *c*, *d* — series of adventitious roots; *a*, *c* — metaxylem mother cells; *b*, *d* — cortical cells

between the results of these workers in the shape of curves illustrating the relative rate of elongation: the curves now obtained have a flatter and wider maximum of elongation rate. On the other hand, worth noting is the concurrence of the various results with regard to the retardation of growth spread over a rather long section of the root, though as has been demonstrated in the present experiments, the length of the retardation zone may differ in various roots.

In an earlier investigation (Hejnowicz 1959) on the elongation rate in the apical part of the root this author found that the relative rate of elongation in the general elongation zone was constant. The same is indicated by the analysis in the present work of the elongation rate in the basal part of the cell division zone based on the lengths of metaxylem mother cells.

This result is highly significant. At this point apparent differences arise between the results of this author and of Goodwin and Erickson who state that also in the cell division zone the elongation rate gradually increases with the distance from the tip. The reason for the apparent discrepancy was explained in the earlier paper of the present author and

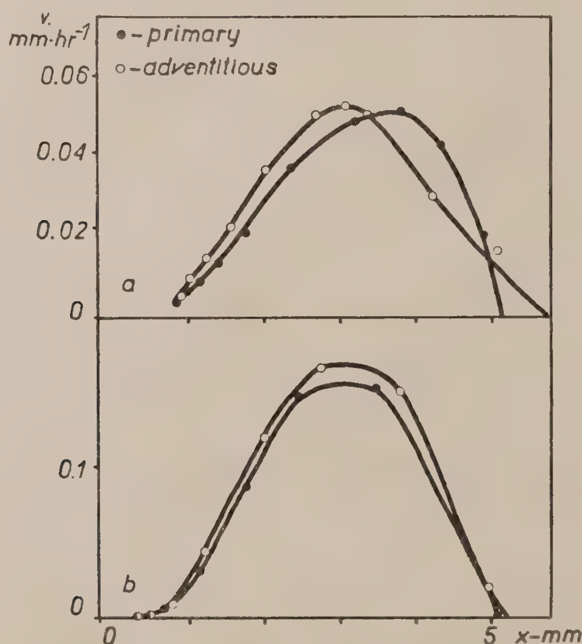


Fig. 14. Absolute elongation rate of cells as the function of their distance from the tip. *a* — cortical cells; *b* — metaxylem mother cells

the conclusion then reached was that the evidence in favour of the constant elongation rate in the cell division zone is more convincing.

Another interesting point is the concurrence between the value of the maximum relative elongation rate established by this author and by other workers. Under optimum conditions for the growth of roots the maximum is in all instances about 40 per cent per hour.

On the other hand, the course of cell elongation here described closely resembles the course reported by Burström. Thus, the course of cell elongation observed by Burström corresponds on the whole to the growth distribution described by Goodwin and Erickson.

When the position of a cell at various moments during its elongation is known, the relative elongation rate of cells may be expressed as the function of the distance from the tip. To enable these calculations the curves in figs. 10 and 11 have been supplied with figures indicating the position of cell. The distribution of growth determined in this indirect manner is shown by the curves in fig 13, where for comparison the growth distribution curves determined directly (dashed lines) are also plotted. As is to be seen the concurrence between the two kind of curves is almost complete. Thus, the statement that the curves illustrating the course of cell elongation and the distribution of growth are conformable is supported once again.

In connection with the problem under consideration attention should be drawn also to the rate of cell elongation in various parts of apex. The starting point in this case are the curves *b* in figs. 10 and 11, whereas the relevant curves are plotted in fig. 14. As is to be seen the maximum of the cell elongation rate is situated in the middle of the elongation zone. On the other hand, the elongation rate of cells when they are still in the cell division zone is very small, which is revealed by the curves for metaxylem mother cells. It is to be noted that this kind of graphs is not suitable for quantitative interpretations. The reason is that the elongation rate of various kinds of cells differs at the same distance from the tip, since it depends on the length of cells at the beginning of the elongation zone.

SUMMARY

The aim of this work has been to bridge the gap between the researches on the course of cell elongation in the root, i.e. the approach followed by Burström, and on the distribution of growth in the root, i.e. the line of investigation represented by Goodwin and Erickson. For this purpose both the distribution of growth and the course of cell elongation have been determined on the same roots of wheat.

A new variant of the displacement rate method has been introduced for determining the distribution of growth. It is based on measurements of the length of cells in a file.

It has been found that the course of cell elongation reported by Burström (fig. 1), with the characteristic sudden retardation of elonga-

tion with time, corresponds on the whole to the distribution of growth reported by the representatives of the other line of approach to the problem, i.e. with growth characterised by a gradual decrease of the elongation rate in the basal part of the elongation zone.

The supposition advanced in an earlier paper, that the relative rate of elongation is constant throughout the cell division zone in the root, has been confirmed.

Institute of Plant Anatomy and Cytology
University of Wrocław

(Entered: 15.4.1960)

REFERENCES

Brumfield R. T., 1942, Cell growth and division in living root meristems, Amer. Jour. Bot. 29: 533.

Burström H., 1953, Studies on growth and metabolism of roots. IX. Cell elongation and water absorption, Physiol. Plant. 6: 262.

Burström H., 1957, Auxin and the mechanism of root growth, Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 44.

Burström H., 1957b. On the adaptation of roots to β-indolylacetic acid, Physiol. Plant. 10: 187.

Erickson R. O. and Goddard D. R., 1951, An analysis of root growth in cellular and biochemical terms, Growth Symp. 10: 89.

Erickson R. O. and Sax K. B., 1956, Elemental growth rate of the primary root of *Zea mays*, Proc. Amer. Philos. Soc. 100: 487.

Goodwin R. H. and Stepka W., 1945, Growth and differentiation in the root tip of *Phleum pratense*, Amer. Jour. Bot. 32: 36.

Goodwin R. H. and Avers Ch. J., Studies on roots. III. An analysis of root growth in *Phleum pratense* using photomicrographic records, Amer. Jour. Bot. 43: 479.

Hejnowicz Z., 1956, Growth and differentiation in the root of *Phleum pratense*. I. Growth distribution in the root, Acta Soc. Bot. Pol. 25, 459.

Hejnowicz Z., 1956 b, Growth and differentiation in the root of *Phleum pratense*. II. Distribution of cell divisions in the root, Ibid. 25: 615.

Hejnowicz Z., 1959. Growth and cell division in the apical meristem of wheat roots, Physiol. Plant. 12: 124.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Melosira islandica O. Müll. subsp. *helvetica* O. Müll. w kilku jeziorach z okolic Węgorzewa

Melosira islandica O. Müll, subsp. helvetica O. Müll. in five lakes of the surroudings of Węgorzewo

J. PÓŁTORACKA

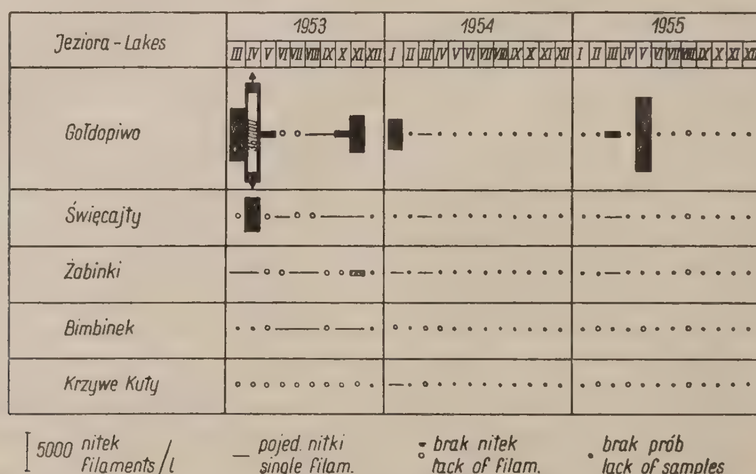
Stanowisko systematyczne *Melosira islandica* nie jest dotychczas pewne. Według niektórych autorów (Cleve-Euler 1912; Betghe 1925) gatunek ten jest bardzo blisko spokrewniony z *Melosira granulata*. Istotną podstawą oddzielenia *Melosira islandica* od *Melosira granulata* był brak kolców na końcowych komórkach nitek tak charakterystycznych dla *Melosira granulata*. Późniejsze jednak poszukiwania wykazały obecność kolców u *Melosira islandica*, jakkolwiek spotykano je bardzo rzadko i tylko w niektórych porach roku. Cleve-Euler (1912) badając jeziora szwedzkie znajdowała je wiosną; Betghe (1925) obserwował je w Haweli szczególnie w porze letniej. Występowały one tam głównie na nitkach, których szerokość wynosiła mniej niż 10,5 μ. Przy cienkich nitkach, około 3 μ, wyrostki spotykano rzadko. W związku z tym nasunęła się wątpliwość co do słuszności wyodrębnienia obu gatunków. Według wspomnianych autorów *Melosira islandica* jest tylko odmianą *Melosira granulata,* odpowiednio przystosowaną do zimnej wody; gatunek ten bowiem dochodzi do najsilniejszego rozwoju najczęściej w chłodnych porach roku.

Niejednolity pogląd różnych autorów co do systematycznego stanowiska *Melosira islandica* był być może przyczyną, że okrzemkę tę oznaczano jako *Melosira granulata* (często notowaną) i dlatego w dawniejszych pracach planktonowych rzadko ją podawano, a z terenu Polski w ogóle nie jest wymieniana. Również wcześniejsze badania jezior terenu Pojezierza Mazurskiego (Schroeder 1900, Krause 1906) nie wykazały obecność tej okrzemki. Dopiero niedawno znaleziono ją w kompleksie wielkich jezior w okolicy Giżycka, gdzie tworzy tak wielkie za-

kwity w jesiennej porze roku (O l s z e w s k i 1953), że powoduje zatykanie sieci rybackich. Według ustnych informacji znaleziono ją również w niedużych ilościach w planktonie jeziora Tajty (S p o d n i e w s k a — materiały nie opublikowane) w letnim okresie.

W zbiornikach węgorzewskich *Melosira islandica* ssp. *helvetica* nigdy nie posiadała kolców, pomimo że formę tę spotykano również w ciepłej porze roku. Nitki o szerokości komórek 7,4—23 μ i wysokości 10—15 μ, najczęściej grubo porowane, posiadały 12—15 w 10 μ podłużnych rzędów por biegnących prosto, równolegle względem siebie i 14—15 w 10μ poprzecznych rzędów. Trudno dostrzegalny sulkus był wykształcony zawsze w postaci litery V.

Melosira islandica również w inych krajach europejskich notowana była rzadko. Znana jest głównie z północnej, częściowo środkowej Europy (C l e v e - E u l e r 1938 — cyt. za L u n d h - A l m e s t r a n d A. 1954; 1951; N y g a a r d 1945; L u n d h - A l m e s t r a n d 1954; B e t g h e



Ryc. 1. Wykres ilustrujący okresowy rozwój *Melosira islandica* ssp. *hevetica* w badanych jeziorach

1925; N i p k o w 1950; L u n d 1954). Badania C l e v e - E u l e r (1951) jezior szwedzkich wykazały tylko trzy miejsca jej występowania, a późniejsze L u n d h - A l m e s t r a n d (1954) czterdziestu jezior na tym samym terenie potwierdziły wybitną rzadkość tej okrzemki. Zgodne jest to zresztą z obserwacjami L u n d (1954) na terenie Anglii.

Melosira islandica jak również *Melosira islandica* ssp. *helvetica* uznawane są za wymierające reliktowe formy (Z a b e l i n a i inni 1951)

i tym można również tłumaczyć ich sporadyczność i ograniczenie występowania w Europie głównie do północnej i środkowej części.

Całoroczne obserwacje nad zmienością planktonu roślinnego, przeprowadzone w pięciu jeziorach (Gołdopiwo, Święcajty, Żabinki, Krzywe Kuty, Bimbinek) różniących się morfologicznie, pozwoliły na prześledzenie dynamiki liczebności tej ciekawej okrzemki i próbę powiązania odmiennego charakteru rozwoju w poszczególnych jeziorach z ich specyficznymi właściwościami (Metodyka pracy — P ó ł t o r a c k a, w druku).

W okresie wiosny, w kwietniu, przy temperaturze powierzchniowej 7,6°C. *Melosira islandica* ssp. *helvetica* doszła w jeziorach Gołdopiwo i Święcajty do szczytowego rozwoju (wykres), osiągając w pierwszym z nich szczególnie wysoką liczebność — 36 tys. osobników na 1 litr. W tym czasie stanowiła ona w Gołdopiwie 90%, a w Święcajtach 60% wszystkich występujących okrzemek i decydowała o wystąpieniu wiosennego maksimum planktonu w tych dwu jeziorach. Intensywnemu rozwojowi *Melosira islandica* ssp. *helvetica* towarzyszył nieznaczny wzrost liczebności *Melosira ambiqua, M. granulata, Cyclotella comta* w jez. Gołdopiwo i *Melosira ambiqua, Diatoma elongatum, Cyclotella comta, Asterionella formosa i Stephanodiscus astraea* w jez. Święcajty.

W pozostałych trzech badanych jeziorach: Bimbinek, Żabinki, Krzywe Kuty okrzemkę tę notowano, ale w dwóch pierwszych występowała najczęściej w bardzo małych ilościach, w ostatnim spotkano ją tylko sporadycznie w styczniu pod lodem. W jeziorach tych wiosną liczebność fitoplanktonu była niska i w przeciwieństwie do wspomnianych wyżej zbiorników nie obserwowano tu charakterystycznego wiosennego szczytu.

Na podstawie zmian liczebności planktonu roślinnego badane jeziora można podzielić na dwie grupy pod względem intensywności rozwoju w okresie wiosny:

Pierwszą grupę stanowią jeziora Gołdopiwo i Święcajty, w których maksimum wiosenne wiąże się z wybitnym rozwojem *Melosira islandica* ssp. *helvetica*.

W drugiej grupie, obejmującej Żabinki, Krzywe Kuty i Bimbinek, nie obserwowano w tym czasie intensywnego rozwoju fitoplanktonu, a liczebność *Melosira islandica* ssp. *helvetica* była niska (Żabinki), bądź też gatunek ten wiosną nie był wcale reprezentowany.

Należy się więc zastanowić, jakie czynniki mogły zadecydować o gwałtownym wzroście liczebności tej formy wiosną w Gołdopiwie i Święcajtach, a uniemożliwiły jej rozwój w jeziorach Żabinki, Krzywe Kuty i Bimbinek.

Temperatury w powierzchniowych warstwach wody, mierzone w okresie wiosennej cyrkulacji w kwietniu, nie wykazywały takich różnic

Tabela 1

Niektóre elementy charakteryzujące badane jeziora

Jeziora	Powierzchnie w ha	Głębokość maksymalna	Głębokość względna	Stopnie statyczności	Temp. w pow. warst. wody w okresie wiosennej cyrkulacji w kwietniu	Temp. pow. w maju
Święcajty	814	28	0,010	III	7,3—7,6°C	7,2°C
Gołdopiwo	887	27	0,009	III	7,4—7,6°C	9,0°C
Żabinki	40,6	42,5	0,067	V	8,5—8,5°C	11,1°C
Krzywe Kuty	123 (18*)	25	0,059	IV	8,4—10,6°C	13,4°C
Bimbinek	7,7	18	0,058	V	5,8—8,8°C	14,4°C

* Powierzchnia odizolowanej zatoki północnej.

(tab.), które mogłyby tłumaczyć odmienny przebieg procesów rozwojowych planktonu roślinnego w dwóch wyróżnionych grupach zbiorników. Badane jeziora charakteryzują się zbliżoną zasobnością w sole mineralne (Patalas 1960a). Jednak pod względem cech morfologicznych, warunkujących intensywność wiosennego mieszania, zaznaczają się tak duże różnice w obu grupach, że mogą tłumaczyć odmienny w nich przebieg wiosennego rozwoju planktonu roślinnego.

Jeziora Gołdopiwo i Święcajty charakteryzują się dużymi powierzchniami i głębokościami maksymalnymi oraz małymi głębokościami względnymi. W obu zbiornikach mieszanie wody przebiega intensywnie (Patalas 1960b), na co wskazują, między innymi, niskie temperatury wody powierzchniowej w pierwszych dniach maja (tab. 1).

W związku z tym komórki przetrwalnikowe *Melosira islandica* ssp. *helvetica* leżące w okresie zimy w mule, podobnie zresztą jak i innych gatunków rodzaju *Melosira* i gatunków innych okrzemek (Nipkow 1950, Lund 1954), mogą być podniesione w stosunkowo dużej ilości, aby ich podział mógł spowodować powstanie wiosennego maksimum. Ponieważ komórki przetrwalnikowe różnych gatunków rodzaju *Melosira* i niektórych innych okrzemek występują w postaci żywej i tylko nieznacznie odbiegają wewnętrzną strukturą od komórek wegetatywnych (Nipkow 1950, Lund 1954) — pozwala im to znacznie wcześniej rozpocząć rozwój od gatunków zimujących w postaci różnych innych typów przetrwalników. Podniesione z mułu, w wyniku wiosennej cyrkulacji, komórki przetrwalnikowe tych form mogą natychmiast rozpocząć rozwój. Fakt jednak gwałtownego rozwoju tylko jednej z nich — *Melosira islandica* ssp. *helvetica* — wskazuje, że gatunek ten znajduje w tym czasie korzystniejsze warunki w stosunku do pozostałych. Jest to zrozumiałe, jeśli się weźmie pod uwagę obserwacje różnych autorów (Nipkow 1950, Lundh-Almestrand 1954), którzy stwierdzili jej występowanie w zimnych okresach roku, a rozwój obserwowali najczęściej przy niskich temperaturach wody i w granicach intensywności światła panujących w okresie wiosennego mieszania. Nipkow (1950) badając Jezioro Zuryskie zauważył w okresie podwyższonej temperatury i słonecznej pogody przechodzenie *Melosira islandica* ssp. *helvetica* w stadium spoczynku; kiedy jednak nastąpił krótkotrwały spadek temperatury i zachmurzenie, obserwował on uwstecznienie zmian w strukturze wewnętrznej komórek charakterystycznych dla przechodzenia ich w stan spoczynku. Powtórne tworzenie się stadium przetrwalnikowego wystąpiło w następnym okresie ciepłej i słonecznej pogody. Rodhe (1948, cyt. za Mc Combie 1952) stwierdził, że intensywność rozwoju tej okrzemki zwiększa się wraz ze wzrostem intensywności światła i temperatury, ale tylko do pewnych granic, zbliżonych do panujących w okresie wiosennym; dalszy natomiast wzrost

natężenie światła hamuje jej rozwój. Ta więc *Melosira islandica* ssp. *helvetica* posiada szczególnie korzystne możliwości rozwoju w okresie wiosennego mieszania, pod warunkiem, że ilość przystępujących do podziału komórek podniesionych z dna jest dostatecznie duża. Intensywność cyrkulacji w jeziorach może więc tu mieć zasadnicze znaczenie. Tym przypuszczalnie można tłumaczyć powstanie wiosennego maksimum w zbiornikach dobrze mieszanych, jakimi są Gołdopiwo i Święcajty.

W przeciwieństwie bowiem do nich w pozostałych badanych jeziorach: Żabinki, Krzywe Kuty i Bimbinek, różniących się między sobą głębokościami maksymalnymi i charakteryzujących się stosunkowo małymi powierzchniami i dużymi głębokościami względnymi (tab. 1), intensywność mieszania wody jest znacznie mniejsza, o czym świadczą wyższe temperatury powierzchniowe mierzone w tym samym czasie. Można więc przypuszczać, że w tych zbiornikach ilość podniesionych z mułu komórek przetrwalnikowych *Melosira islandica* ssp. *helvetica* jest zbyt mała, aby ich podział mógł wytworzyć szczyt wiosenny.

Z końcem wiosny następuje gwałtowny spadek liczebności tej okrzemki spowodowany prawdopodobnie wzrastającym natężeniem światła (R o d h e 1948, cyt za Mc C o m b i e 1952); nitki jej opadają na dno i pozostają tam aż do jesieni. W ciągu lata pojawiała się tylko sporadycznie, zawsze w bardzo nieznacznych ilościach. Fakt obecności *Melosira islandica* ssp. *helvetica* w okresie ciepłym w powierzchniowych warstwach wody jezior o wyraźnym w tym czasie epilimnionie można tłumaczyć przeniesieniem jej nitek z płytkich, brzeżnych partii jezior, mieszanych bez przerwy, na co wskazuje jej sporadyczność i niska liczebność.

Jesienią, w miarę postępującego mieszania, osadzone na dnie nitki zostają przeniesione do toni wodnej i okrzemka ta rozpoczyna powtórny rozwój. W badanych jeziorach nie był on tak intensywny, jak wiosną i obserwowano go tylko w niektórych z nich. Z jezior dobrze mieszanych tylko w Gołdopiwie forma ta osiągnęła znaczną liczebność (wykres), ale nie stanowiła najliczniejszego komponentu jesiennego maksimum fitoplanktonu. Natomiast w Święcajtach *Melosira islandica* ssp. *helvetica* występowała w tym czasie w niewielkich ilościach, nie wykazując żadnej tendencji wzrostu. W pozostałych słabo mieszanych jeziorach obserwowano różnorodne stosunki: w Krzywej Kucie w ogóle nie znaleziono jej w tym czasie, w Bimbinku występowała w nieznacznych ilościach, a w Żabince osiągnęła nieduży wzrost.

Jesienny rozwój *Melosira islandica* ssp. *helvetica* przebiega prawdopodobnie w warunkach znacznie mniej pomyślnych niż wiosną: w tym czasie bowiem początkowo intensywność światła jest stosunkowo duża, co dla tej okrzemki jest czynnikiem niekorzystnym. W wyniku mieszania obok nitek *Melosira islandica* ssp. *helvetica* zostają podniesione z dna i in-

ne okrzemki, które okres niepomyślnych warunków przetrzymują w podobny sposób. Prawdopodobnie znajdują one w tym czasie lepsze możliwości rozwoju i tym można tłumaczyć silny wzrost liczebności, np. *Stephanodiscus astraea* w jeziorach Gołdopiwo i Święcajty, który może w tym czasie hamować rozwój *Melosira islandica* ssp. *helvetica*.

Wielkość rozwoju form przetrzymujących niekorzystne warunki na dnie zdaje się w dużym stopniu zależeć od liczebności, jaką osiągnęły one w poprzednim okresie rozwoju, tzn. od ilości osadzonych osobników. Im liczebność ta jest wyższa, tym większa ilość podniesionych do toni wodnej osobników przystępuje do podziału. Tym można tłumaczyć wystąpienie jesiennego wzrostu *Melosira islandica* ssp. *helvetica* w Gołdopiwie, a brak jego w Święcajtach. W pierwszym bowiem jeziorze w okresie wiosennym forma ta osiągnęła bardzo wysoką liczebność, a w drugim rozwój jej był znacznie niższy.

Z pozostałych jezior w Krzywej Kucie spotkano ją w ciągu całego okresu badań tylko jednorazowo w bardzo małych ilościach: w Bimbinku natomiast jakkolwiek stanowiła częsty, to jednak zawsze nieliczny składnik planktonu. Ponieważ oba jeziora należą do słabo mieszanych, należy się spodziewać, że tylko nieznaczna część nielicznych komórek przetrwalnikowych dostaje się z mułu do toni wodnej.

Również wcześniej rozpoczynający się w obu jeziorach intensywny wzrost liczebności *Asterionella formosa*, prawdopodobnie w dużym stopniu hamował wzrost *Melosira islandica* ssp. *helvetica*. Tak więc współdziałanie tych trzech czynników: niskiej liczebności, słabego mieszania i intensywnego rozwoju innej formy może wyjaśnić brak tendencji rozwoju *Melosira islandica* ssp. *helvetica* jesienią w omawianych jeziorach.

W Żabince natomiast, jakkolwiek w ciągu całego okresu badań liczebności tej okrzemki nie była duża i pomimo, że reprezentuje ona również jezioro o słabym mieszaniu, to jednak obserwowano jesienią pewien nieduży wzrost tej formy. Prawdopodobnie jest on możliwy dzięki bardzo ograniczonemu rozwojowi innych gatunków. Późną jesienią, w listopadzie, obserwowano spadek ilościowy najliczniejszych komponentów, który nastąpił w okresie prawdopodobnie najkorzystniejszym pod względem intensywności światła dla rozwoju *Melosira islandica* ssp. *helvetica* i tym można tłumaczyć w tym czasie jej nieduży rozwój.

Zimą pod pokrywą lodową znajdowano *Melosira islandica* ssp. *helvetica* w niedużych ilościach. Stratyfikowane próby wykazywały jej obecność na wszystkich głębokościach. W rozmieszczeniu pionowym tej okrzemki można było zauważyć pewną tendencję skupiania się jej w warstwach głębszych, czego nie można tłumaczyć stopniowym opadaniem po jesiennym mieszaniu, ponieważ próby brano na krótko przed zejściem lodu.

Badania Cleve-Euler (1912) wykazały, że w czasie zimy następuje pewien nieznaczny jej rozwój prawdopodobnie w warstwach górnych; nowo powstałe nitki po pewnym czasie opadają na dno.

STRESZCZENIE

Przeprowadzono całoroczne obserwacje zmian ilościowych *Melosira islandica* ssp. *helvetica* w pięciu jeziorach różniących się morfologicznie.

Wiosną w jeziorach o intensywnym stopniu mieszania okrzemka ta osiągnęła znaczny rozwój decydując o wystąpieniu maksimum planktonu roślinnego w przeciwieństwie do jezior słabo mieszanych, w których nie zauważono wzrostu jej liczebności. W okresie letnim stanowiła ona prawdopodobnie przypadkowy komponent fitoplanktonu, spotykano ją rzadko i zawsze w nieznacznych ilościach. Wzrost jesienny *Melosira islandica* ssp. *helvetica* był słabszy i zaznaczył się tylko w dwóch jeziorach, z których jedno charakteryzuje się intensywnym, drugie słabym mieszaniem. Prawdopodobnie jesienią okrzemka ta rozpoczyna rozwój w warunkach mniej korzystnych niż wiosną, przy jednocześnie dość silnym wzroście innych gatunków i te czynniki, obok intensywności mieszania, być może decydują o charakterze obserwowanych stosunków.

Instytut Rybactwa Śródlądowego
Olsztyn-Kortowo

(Wpłynęło dn. 15.4.1960 r.)

SUMMARY

In five, morphologically different lakes, annual observations on quantitative changes of *Melosira islandica* ssp. *helvetica* were carried out.

In spring in lakes with intensive water movement this diatom reached a conspicuous development causing a maximum of plankton development; in contrast to lakes with small water movement in which the changes in its amount were not noted.

In summer it formed probably a casual component of phytoplankton and was found only rarely and in small amounts. The autumnal increase of *Melosira islandica* ssp. *helvetica* was less intense and was found in two lakes only, from which one is characterised by intensive, and the second by much less water movement. Probably in autumn this diatom starts its development in conditions less favourable than in spring. At the same time the growth of other species was intensive and this factor together with water movement were probably the most decisive for the observed relationships.

LITERATURA

Bethge H., 1925, Melosira und ihre Planktonbegleiter. Pflanzenforschung H. 3.

Cleve-Euler A., 1912, Das Bacillariaceen-Plankton in Gewässern bei Stockholm II. Zur Morphologie und Biologie einer pleomorphen Melosira, Archiv für Hydrobiologie und Planktonkunde B. 7.

Cleve-Euler A., 1951, Die Diatomeen von Schweden und Finnland, Kungl. Svenska Vetensk. Handl. 2 (1) Teil I.

Mc Combie A. M., 1952, Factors influencing the growth of phytoplankton. Journal of the fisheries research board of Canada. 10 (5).

Lund J. W. G., 1954, The seasonal cycle of the plankton diatom *Melosira italica* (Ehr.) Kütz. ssp. *subarctica* O. Müll., The Journal of Ecology 42(1): 151—179.

Lundh-Almestrand A., 1954, *Melosira islandica* and *M. granulata* in the Scanian Lake Ringsjön, Svensk. Bot. Tidskr. 48(2): 591—595.

Krause F., 1906, Das Phytoplankton des Drewenzsees in Ostpreussen, Archiv für Hydrobiologie und Planktonkunde, B. I.

Nipkow F., 1950, Ruheformen planktonischer Kieselalgen im geschichteten Schlamm des Zurichsees, Schweiz. Zeitsch. für Hydr. 12.

Nygaard G., 1945, Dansk Planteplankton, København.

Olszewski P., 1953, Zakwit jesienny na jeziorach mazurskich. Wszechświat 9—10.

Patalas K., 1960a, Charakterystyka składu chemicznego wody czterdziestu czterech jezior okolic Węgorzewa, Roczn. Nauk Roln. Ser. (w druku).

Patalas K., 1960b, Mieszanie wody jako czynnik określający intensywność krążenia materii w jeziorach okolic Węgorzewa, Roczn. Nauk Roln. Ser. (w druku).

Półtoracka J., 1960, Sezonowe zmiany planktonu roślinnego pięciu jezior węgorzewskich. Roczn. Nauk Roln. (w druku).

Schroeder B., 1900, Das Pfanzenplankton preussischer Seeen, Untersuchungen in den Stuhmer Seeen von Seligo A. Danzig.

Spodniewska I., Nie opublikowane materiały z Tajt.

Zabelina M. M., 1951, Opriedielitiel priesnowodnych wodoroslej SSSR. 4 Diatomowyje wodorosli, Moskwa.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Grzyb *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. i jego rozpoznanie

Leptoporus albidus (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. et son diagnostic

ST. DOMAŃSKI

Grzyb *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. z rodziny *Polyporaceae* występuje w całej strefie umiarkowanej półkuli północnej na drewnie iglastym, przeważnie w lesie, rzadziej w budynkach, i na ogół w literaturze uważany jest za gatunek bardzo pospolity, zwłaszcza w Europie (Bourdot et Galzin 1928; Pilát 1938). Przeważnie jako saprofit rozkłada on martwe drewno. Niekiedy jednak może przechodzić do pasożytniczego trybu życia na uszkodzonych powierzchniowo żywych drzewach (Rypáček 1957). Ponieważ w polskiej literaturze mikologicznej i fitopatologicznej gatunek ten jest obecnie prawie zawsze pomijany, skłoniło mnie to do przeprowadzenia cyklu obserwacji i badań, które by rzuciły światło na jego występowanie w Polsce i na podstawie materiału zebranego u nas pozwoliły opracować jego diagnozę opartą na opisie:

a) owocników,

b) kultury na sztucznej pożywce,

c) zgnilizny wraz z podaniem cyfr charakteryzujących intensywność rozkładu drewna w warunkach laboratoryjnych.

STANOWISKO SYSTEMATYCZNE GATUNKU

Grzyb *Leptoporus albidus* należy do grupy gatunków i form o bardzo zagmatwanej synonimice. Romell (1926) próbował dowieść nie tylko pokrewieństwa, ale i tożsamości tego grzyba (opisanego po raz pierwszy przez Schaeffera w 1763 r. jako *Boletus albidus*) z następującymi gatunkami: *Polyporus alutaceus* Bres. (vix Fries), *P. chioneus* Fries (non Bres.). *P. destructor* Schrad. (non Bres.), *P. stipticus* Pers. (non

Fries), *P. trabeus* Fries (non Rostk.?) oraz z *P. amarissimus* von Post. Pogląd ten z nowszych mikologów podziela Pilát (l. c.), który opisuje tego grzyba pod nazwą *Leptoporus stipticus* (Pers.) Quél. dodając cechy szeregu gatunków (np. *P. stipticus* Fr., 1821, *P. epixanthus* Rostk., 1838, *P. epileucus* sensu Post et Killermann, 1926, itd.) nie branych pod uwagę przez Romella (l. c.) jako identyczne z *Boletus albidus* Schaeff. Bondarcew (1953) uważa powyższy pogląd Piláta za dość swoisty przede wszystkim dlatego, ponieważ *Leptoporus stipticus* w interpretacji Quéleta (1888) — uznawany powszechnie za synonim *Boletus albidus* Schaeff. — mimo identycznie brzmiącego epitetu gatunkowego *(stipticus)*, nie może być uważany za identyczny z gatunkiem *Boletus stipticus* opisanym przez Persoona (1801). Oba gatunki bowiem mają odmienne zarodniki, konsystencję i smak miąższu. I w ślad za interpretacją Bresadoli i innych mikologów gatunek Persoona utożsamia się w ostatnim czasie raczej z *Polyporus anceps* Peck [= *Trametes squalens* Karst.].

Sam Persoon zresztą miał poważne obawy przed łączeniem swego *B. stipticus* z *B. albidus* Schaeff. Opisując swój gatunek w „Synopsis Methodica“ w 1801 roku znał on już dzieło Schaeffera „Fungorum qui in Bavaria et Palatinatu circa Ratisbonam nascuntur icones“, w którym podany został opis i ilustracje *B. albidus* (II: tab. 124, 1763, i IV: tab. 84, 1770). Bardzo często też powoływał się w „Synopsis“ na powyższą pracę, konfrontując niektóre opisywane przez siebie gatunki z nazwami identycznych gatunków i ich ilustracjami podawanymi przez Schaeffera. Tak czyni opisując np. na str. 524 *Boletus citrinus* [= *Grifola sulphurea* (Bull. ex Fr.) Pil.], który utożsamia z *Boletus caudicinus* Schaeff., przedstawionym w dziele Schaeffera na tablicach 131—132. Natomiast przy opisie *B. stipticus* Pers. brak jest jakiegokolwiek komentarza, który by wskazywał na podobieństwo czy analogię tego grzyba, z którymś z gatunków opisanym przez Schaeffera.

Nie jest wykluczone, że wpływ na stanowisko Persoona miała nie bardzo udana ilustracja i niezbyt ścisły opis grzyba *Boletus albidus* podany przez Schaeffera. W niektórych bowiem odbitkach — przynajmniej tak uważa Romell (l. c.) — ryciny *B. albidus* podane przez Schaeffera posiadają nienormalnie niebieskawy odcień, wynikający najprawdopodobniej z zastosowania złej techniki drukarskiej. Skłoniło to nawet Sowerby'ego (1799: tab. 226), a za nim i Friesa (1821. str. 360) do utożsamiania *B. albidus* Schaeff. z *Boletus caesius* Schrad. [= *Leptoporus caesius* (Schrad. ex Fr.) Pil]. Prócz tego Schaeffer określa swój gatunek jako „lignosus“ (= zdrewniały). Owocniki jego są co prawda bardzo twarde, ale dopiero po wyschnięciu, a i wtedy nie można ich uważać za zdrewniałe, przynajmniej w myśl

znaczenia przypisywanego aktualnie terminowi „lignosus" w opisach morfologiczno-mikologicznych. To określenie „lignosus" skłoniło z kolei Quélet do identyfikowania *B. albidus* Schaeff. z *Polyporus osseus* Kalchbr., czemu zaprzeczają jednak ryciny Schaeffera, na których miąższ owocników *B. albidus* posiada nietypową dla *P. osseus* strukturę włóknistą. Mimo tych dwóch zastrzeżeń dzisiaj na ogół dość jednoznacznie interpretuje się *B. albidus* Schaeff. Niejasna natomiast wydaje się dla wielu autorów interpretacja i pozycja *Boletus stipticus* Persoon i dlatego coraz częściej obserwuje się obecnie tendencje do pomijania tej nazwy w taksonomii i synonimice *Polyporaceae* (Bourdot et Galzin l.c.; Bondarcew l.c., Nobles 1958).

W niniejszej publikacji przyjęto punkt widzenia wspomnianych wyżej dwóch autorów francuskich oraz Bondarcewa, a więc interpretację najbardziej ścisłą i wąskozakresową, ograniczającą synonimikę jedynie do nazw gatunków grzybów, których identyczność nie budzi wątpliwości u większości autorów, a mianowicie: *Boletus albidus* Schaeff. (1763), *Polyporus albidus* Schaeff. ex Secr. (1833), *P. albidus* Schaeff. ex Trog. in Fr. (1938), *Polystictus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Cke (1886), *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. (1928), *Polyporus stipticus* Quél. (1872), non Pers., nec Fr., nec Lloyd, nec Bres., *P. maculatus* Peck (1874).

ROZPRZESTRZENIENIE I WYSTĘPOWANIE W POLSCE

W Polsce gatunek ten podawany był z kilku stanowisk jako *Polyporus albidus* Trog. przez Kwiecińskiego (1896) z pow. Włodawa (woj. lubelskie), Błońskiego (1887) z Puszczy Białowieskiej. Schrötera (1889) z kilku stanowisk na Dolnym i Górnym Śląsku oraz jako *P. albidus* (Schaeff.) Trog. przez Bresadolę (1903) z okolic Międzyrzeca (woj. lubelskie). Jak widać, stanowisk tych dotychczas było bardzo mało i wszystkie one podawane są przez autorów ok. 60—70 lat temu. Sytuacja powyższa nie uległaby wcale tak zasadniczej zmianie nawet wówczas, gdyby rozpatrywać powyższy gatunek w jak najszerszym znaczeniu przyjętym przez Piláta (l.c.). Zwiększyłaby się wówczas jedynie ilość zanotowanych, również prawie wyłącznie ok. 60—80 lat temu, stanowisk o stanowiska gatunków, które autor ten uważa za identyczne z omawianym, a mianowicie o stanowiska *Boletus stipticus* Pers., które podaje Berdau (1876) „z licznych miejscowości w lasach świętokrzyskich i w lubelskim", o stanowiska *Polyporus stipticus* (Pers.) Fr. podawane przez Błońskiego z Łysogór w pow. Opatów (1890), z Krasnobrodu i Tomaszowa w pow. Zamość (1896) oraz przez Schrö-

t e r a (1889) z pięciu miejscowości na Dolnym Śląsku, następnie o stanowiska *P. stipticus* F r. wymieniane przez K w i e c i ń s k i e g o (1896) z pow. Włodawa (woj. lubelskie), *Polyporus chioneus* F r. przytaczane przez B ł o ń s k i e g o z Puszczy Świsłockiej (1889) i z Łysogór (1890) oraz przez B r e s a d o l ę (1903) i E i c h l e r a (1904) z okolic Międzyrzeca w woj.



Ryc. 1. *Leptoporus albidus* (S c h a e f f. ex S e c r.) B o u r d. et G a l z.

Dwa owocniki na pniu żywego świerka w Wielisławicach, pow. Kępno, 17.VIII, 1957, 1/5 nat. w.
Deux réceptacles sur le tronc vivant de *Picea excelsa* à Wielisławice, distr. Kępno, 17. VIII. 1957, 1/5 orig.

lubelskim. Dopiero ostatnio S k i r g i e ł ł o (1959) przytacza ten gatunek pod nazwą *Leptoporus stipticus* (P e r s.) Q u é l. z Parku Narodowego w Pieninach, gdzie zebrała go w okolicach Krościenka w lesie świerkowo-jodłowym we wrześniu 1955 roku.

Jak z tego widać, żaden z młodszych mikologów — z wyjątkiem S k i r g i e ł ł o — nie podaje i nie omawia w swych pracach gatunku

Leptoporus albidus. A tymczasem według obserwacyj poczynionych w ostatnich latach w różnych okolicach kraju grzyb ten jest w lasach iglastych, zwłaszcza świerkowych, niekiedy chyba równie pospolity jak *Fomes annosus* (Fr.) Cooke. Jak dotychczas znam go z 12 stanowisk w 11 miejscowościach: z Białowieży, gdzie występuje — zresztą dość rzadko — głównie na kłodach świerkowych, ze Św. Katarzyny w Górach Świętokrzyskich (na kłodach i pniakach jodłowych), z Ludwikowa pod Poznaniem (na pniakach świerkowych i sosnowych), z pięciu miejscowości w Puszczy Piskiej na Mazurach, a mianowicie z Guzianki, Isnoty (na pniakach świerkowych), z Kamienia (na kłodach świerkowych), z Rucianego i Wierzby (na pniakach sosnowych), dalej z Beskidu Niskiego, gdzie zebrałem go na Homoli na kłodzie świerkowej oraz z terenów leśnictw Wielisławice i Siemianice, pow. Kępno (woj. poznańskie). W tych ostatnich dwóch leśnictwach jest on szczególnie pospolity i występuje nie tylko na pniakach świerkowych i sosnowych, ale również dość często na żywych i wcale nie obumierających świerkach, przeważnie w odziomkowej części lub na korzeniach, które z jakichkolwiek powodów zostały lokalnie odarte z kory. Na odsłoniętym w ten sposób drewnie bielastym zarodniki grzyba potrafią widocznie wywołać infekcję, która w ostatecznym efekcie prowadzi do rozwoju zgnilizny i owocowania grzyba (ryc. 1).

CECHY ROZPOZNAWCZE

Owocniki

W materiale zebranym przeze mnie na wyżej wymienionych stanowiskach wyróżnić można było cechy wspólne wszystkim owocnikom oraz cechy mniej lub więcej zmienne. Owocniki — zawsze jednoroczne — występowały przeważnie pojedynczo (ryc. 1 i 3) lub w niewielkich dachówkowatych skupieniach (ryc. 2), w których po kilka konsolek zrośniętych było nasadami. Przeważały owocniki mniej lub więcej muszlowate w kształcie dość regularnych półkolistych konsolek o górnej powierzchni mniej lub więcej poziomej lub u nasady zagłębionej i często zwężonej, lub też przechodzącej w krótką boczną nóżkę (Wielisławice, Guzianka, Ludwikowo). Rzadziej były to konsolki bokiem przyrośnięte do podłoża, z górną powierzchnią nieco wypukłą (Isnota, Wielisławice), rozpostarto-odgięte (Homola, Kamień, Św. Katarzyna) lub nawet resupinatowe (Kamień). Niekiedy, jak np. w Isnocie lub w Siemianicach, obok owocników typowych występowały na tym samym stanowisku również owocniki kształtem przypominające owocniki gatunku *Leptoporus floriformis* (Quél.) B. et G., z którym w ogóle omawiany gatunek ma wiele wspólnego.

Górna powierzchnia kapeluszy była nierówna, zawsze charakterystycznie nieregularnie brodawkowana, chropowata (ryc. 3) lub sfałdowana (ryc. 4), naga lub niekiedy omszona. Brzeg cały lub niekiedy nieznacznie łaciasto powycinany (Białowieża), ostry, po wyschnięciu często lekko podwinięty. Barwa początkowo jednolicie mlecznobiała lub z nieznacznym strefowaniem, po wysuszeniu okazów z odcieniem żółtawym lub częściej jednolicie blado-żółtobrunatna, albo też jednolicie żółta z odcieniem pomarańczowym (*f. alutaceus*), lub nawet jasnoochrowa, zwłaszcza u okazów zebranych i wysuszonych po długim okresie deszczów. Bardzo czę-



Ryc. 2. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz.
Grupa owocników na pniaku świerkowym w Wielisławicach, pow. Kępno, 17.VIII. 1957, ¼ nat. w.
Groupe des réceptacles sur une souche de *Picea excelsa* à Wielisławice, distr. Kępno, 17.VIII.1957 ¼ orig.

sto też, zwłaszcza na brzegu, można było obserwować skłonność do zlepiania się powierzchniowych warstw owocników w brunatnawą, skorupiastą skórkę. Owocniki niekiedy były bardzo drobne, 0,8—1,6×1,5—2,7×0,8—1,6 cm (Św. Katarzyna), najczęściej jednak wymiary ich mieściły się w zakresie 0—0,7×1—8×0,4—3,5 cm.

Trama grubości 0,5—1,5 cm, zawsze biała zwykle z nieznacznym strefowaniem, włóknista i łykowata, w stanie świeżym dość łatwa do rozerwa-

nia, dość miękka i silnie soczysta, o ostrym zapachu i początkowo lekko kwaskowatym smaku, przechodzącym później w silnie palący i gorzki, w stanie suchym najczęściej twarda jak kość i łatwo łamliwa.

Hymenofor rurkowaty, zawsze mniej lub więcej ukośnie zbiegający w dół. Rurki w jednej warstwie, białe, na suchych okazach najczęściej zabarwione identycznie jak górna powierzchnia kapelusza, zmiennej dłu-



Ryc. 3. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. f. (?) *guttalatus* (Peck) Pil.

Powierzchnia owocnika zebranego w Ludwikowie pod Poznaniem na pniaku świerkowym, 31.VIII. 1958, $^{11}/_{10}$ nat. w.

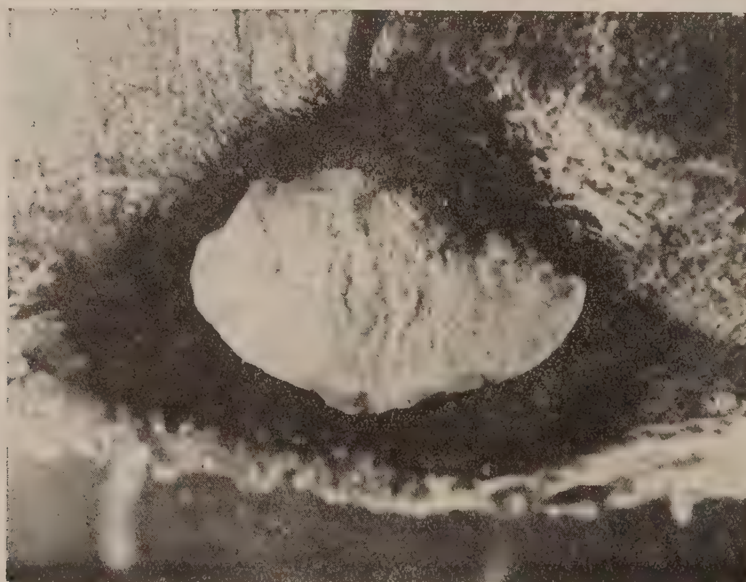
Surface d'un réceptacle récolté sur une souche de *Picea excelsa* à Ludwikowo, distr. Poznań, 31. VIII. 1958, $^{11}/_{10}$ orig.

gości od 0,3 cm u okazów z Wierzby do 0,7 cm u okazów zebranych w Wielisławicach i Białowieży, u pozostałych wahającej się zwykle w granicach od 0,4 do 0,5 cm, wydzielające niekiedy kropelki białego płynu (niektóre okazy w Wielisławicach i Ludwikowie).

Pory (ryc. 5), początkowo najczęściej drobne, koliste lub lekko wydłużone i pokryte białym delikatnym nalotem, w końcu zwykle silniej wydłużone lub nawet nieco labiryntowate i delikatnie ząbkowane, o wymiarach 0,08—0,4—(0,55) mm, przeciętnie 3—6 na 1 mm. Wielkość ta zresztą ulegała zmianom zależnie od stanowiska (tab. 1).

Dissepimenta grubości 0,04—0,125 mm, dość łatwo łamliwe, złożone z niewyraźnych, cienkościennych, bezbarwnych strzępek z niewielkimi sprzążkami, grubości najczęściej 1,5—3,0 μ.

Strzępki tramy owocnika (ryc. 6) przeważnie cienkościenne, niekiedy jednak ze ścianami o dość różnej grubości, a nawet pomieszane z grubościennymi (Białowieża), bezbarwne, zwykle lekko faliste, z licznymi ścia-



Ryc. 4. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz.
Widziany od góry owocnik na pniaku świerkowym w Siemianicach, pow. Kępno, XI. 1958, $^5/_4$ nat. w.
Surface d'un réceptacle croissant sur une souche de *Picea excelsa* à Siemianice, distr. Kępno, XI. 1958, $^5/_4$ orig.

nami poprzecznymi i towarzyszącymi im często wydatnymi pojedynczymi lub podwójnymi sprzążkami, zmiennej grubości, od 2—4 μ u okazów z Guzianki i Ludwikowa, do 2—6 μ u większości okazów z pozostałych stanowisk (tab. 1).

Hymenium złożone z podstawek o wymiarach 12,5—15×3—4 μ ze sterigmami długości 2—3 μ. Zarodniki zawsze cylindryczno-eliptyczne, zwykle lekko jednostronnie spłaszczone i nieco ścięte u podstawy, bezbarwne, gładkie, najczęściej o wymiarach 3,3—4,5×1,5—2,2 μ, a tylko u owocników z Homoli nieco bardziej cylindryczne o wymiarach 3,3—4×1,5—1,7 μ.

Dla wyraźniejszego podkreślenia zakresu zmienności niektórych, zwłaszcza wymiernych cech u zebranych owocników, zestawiono tabelę 1. Widać z niej, że stosunkowo największym zmianom podlegały wymiary grubości strzępek, zwłaszcza w tramie. U niektórych owocników, np. z Guzianki, Ludwikowa i Św. Katarzyny, strzępki te były przeciętnie wyraźnie cieńsze od strzępek analogicznych owocników zebranych np. w Białowieży. Poza tym w stosunku do wielkości podawanych przez P i l á t a (l.c.) i B o n d a r c e w a (l.c.) opisywane okazy przynajmniej w stanie świeżym odznaczały się przeważnie bardzo małymi (przeciętnie) porami. U niektórych owocników (z Wielisławic, Siemianic i Homoli) górna gra-



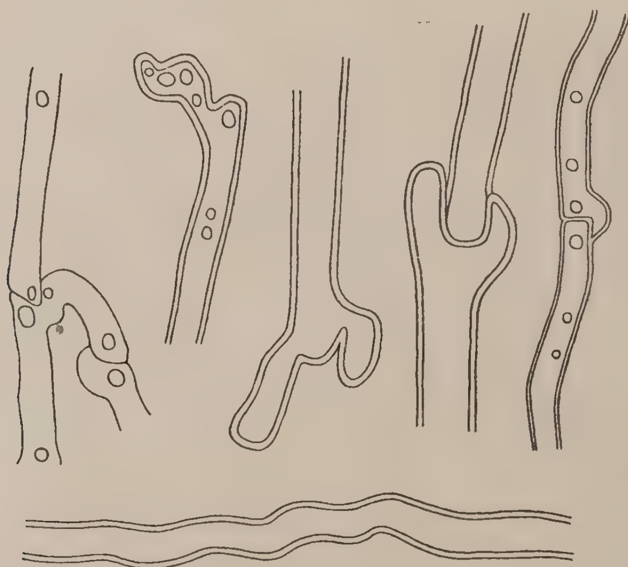
Ryc. 5. *Leptoporus albidus* (S c h a e f f. ex S e c r.) B o u r d. et G a l z.

Pory owocnika zebranego na pniaku jodłowym w Św. Katarzynie, pow. Bodzentyn, 10. X. 1958. $^{6}/_{1}$ nat. w.

Pores d'un réceptacle récolté sur une souche de *Abies alba* à Św. Katarzyna, distr. Bodzentyn, 10. X. 1958, $^{6}/_{1}$ orig.

nica wymiarów średnicy zaledwie osiągała dolną granicę wahań wymiarów tego elementu, podawaną przez powyższych autorów (0,2—0,4 mm i przeciętnie 4 lub 4—5 na 1 mm). Tym samym zbliżały się one bardzo pod tym względem do owocników opisywanych przez P i l á t a z Syberii, których pory wynosiły 0,12—0,3 mm. Okazy zebrane na Homoli posiadały ponadto zarodniki o wymiarach identycznych co okazy syberyjskie

(3,5—4×1,5—1,7 μ). Podobnie drobnymi i identycznymi porami odznacza się wspomniany już powyżej, i bardzo bliski opisywanego gatunku, *Leptoporus floriformis* tak, że w tych wypadkach kiedy kapelusze zbliżały się kształtem do kapeluszy tego ostatniego gatunku (Isnota, Siemianice), moż-



Ryc. 6. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz.
Strzępki tramy owocników, 1230/1 nat. w.
Hyphes de la trame des réceptacles 1230/1 orig.

na było się wahać przy oznaczaniu. O zaliczeniu zebranych okazów do *L. albidus* decydowała w takich wypadkach zawsze znaczna grubość ich kapeluszy oraz dłuższe rurki. Wymiary tych elementów u *L. floriformis* wynoszą bowiem odpowiednio tylko 1—3 i 0,5—1 mm.

Owocniki rozwijały się w ciągu całego okresu wegetacyjnego od czerwca do października.

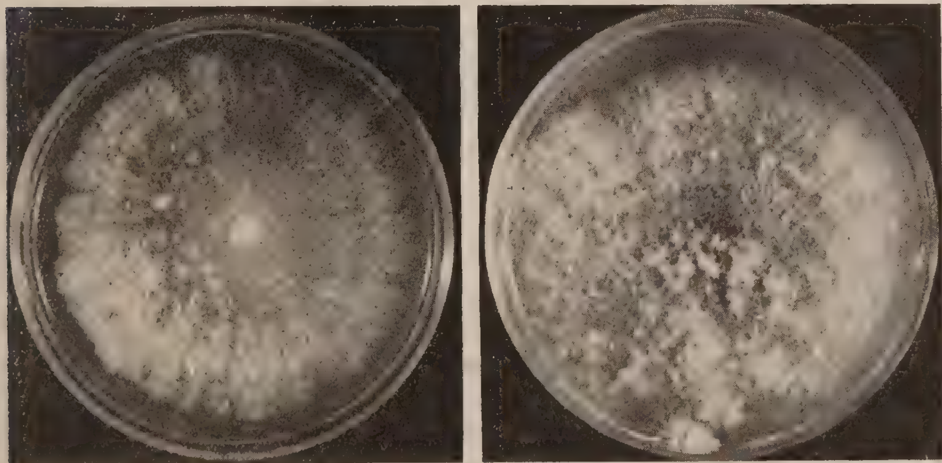
Jak widać z powyższego opisu, zebrane przeze mnie owocniki grzyba posiadały następujące charakterystyczne cechy: 1. kształt konsolek najczęściej mniej lub więcej muszlowatych, przyczepionych zwykle zwężoną nasadą do podłoża lub osadzonych na krótkiej bocznej nóżce, 2. górną powierzchnię kapelusza chropowato brodawkowaną lub nieregularnie pomarszczoną, 3. kolor mlecznobiały w końcu lekkożółtawy lub nawet jasnoochrowy, 4. stosunkowo drobne pory oraz 5. w stanie świeżym nieprzyjemny ostry zapach i gorzki, palący smak.

Kultura

Kulturę grzyba na agarze maltozowym (2% agaru i 2,5% ekstraktu „Malto") otrzymano dwojako: ze świeżych owocników zebranych w leśnictwie Wielisławice oraz ze zgniłego drewna korzenia żywego świerka w leśnictwie Siemianice. Wyrastający owocnik wskazywał, że sprawcą zgnilizny był w tym wypadku grzyb *Leptoporus albidus*. W obu wypadkach kultura była identyczna.

W temperaturze 25°C rozwijała się ona dość wolno, pokrywając powierzchnię pożywki początkowo warstwą delikatnej równomiernej białawej runi przylegającej do pożywki. Po pewnym czasie zaczęła ona przechodzić najczęściej wyspowo, rzadziej równomiernie na całej powierzchni pożywki, w białą, waciastą, mniej lub więcej luźną, nieregularnie kłaczkowato uformowaną grzybnię, tworzącą tu i ówdzie bardziej zbite i wydatniejsze zwoje i loki, niekiedy ułożone strefowo (ryc. 7).

Strzępki grzybniowe (ryc. 8) dwojakie: proste lub nieznacznie falisto powyginane, równogrube, grubości 2—6 μ, gładkie, z mniej lub więcej



Ryc. 7. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz.

Kultury grzyba na agarze maltozowym

Cultures sur l'agaragar de maltose

licznymi ścianami poprzecznymi i towarzyszącymi im często pojedynczymi lub parzystymi sprzążkami, rozgałęziające się często w pobliżu sprzążek i tworzące krótkie drobnokomórkowe odgałęzienia odchodzące niekiedy pod kątem prostym. Prócz tych były również strzępki nierówno

grube, często pęcherzykowato wzdęte lub nieregularnie zgrubiałe nawet do 13,5 μ, złożone ze stosunkowo drobnych komórek, bardzo silnie rozgałęziające się i najczęściej pozbawione sprzążek.

Wybitnie stymulująco na wzrost grzybni w kulturze działało jej zetknięcie się z drewnem sosnowym. Kiedy w doświadczeniu nad intensywnością rozkładu drewna położono klocki sosnowe na kulturach rozwinię-



Ryc. 8. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz.
Strzępki z kultury grzyba zebranego w Siemianicach, 1230/1 nat. w
Hyphes de culture du champignon récolté à Siemianice, 1230/1 orig.

tych na agarze maltozowym w kolbach Kollego i następnie umieszczono te kolby w termostacie w temp. 24°C — to po pewnym stosunkowo krótkim okresie czasu kultury te zaczęły najpierw żywiołowo wytwarzać liczne dość wydatne, do 2—3 cm średnicy, nieregularne kuliste utwory, które po pewnym czasie przekształcały się niekiedy w normalne owocniki z typowo wykształconymi rurkami po górnej stronie. W niektórych kolbach rurki powstawały w dość rozległej warstwie grubości 2—3 mm bezpośrednio na pożywce, przeważnie tuż przy wylocie kolby (ryc. 9).



Ryc. 9. *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz

Trzymiesięczna kultura w kolbie Kollego z leżącymi na niej trzema klockami sosnowymi oraz z warstwą rurek resupinatowego owocnika w pobliżu wylotu kolby, 5/6 nat. w.

Culture trimestrielle avec trois billots du bois de pin places sur elle et des tubes d'un réceptacle resupiné auprès de l'orifice de la crosse de Kolle, 5/6 orig.

Stosując pożywkę zawierającą kwas taninowy, według metodyki podanej przez Davidson, Campbella i Blaisdell (1938) badano kulturę grzyba na obecność oksydaz. Próba dała wynik negatywny. Grzyb wywołuje bowiem zgniliznę typu brunatnego. Zgodne jest to zresztą z wynikami badań Nobles (1958).

Zgnilizna

Od samego początku rozwoju wywoływanej przez grzyba zgnilizny typu brunatnego drewno przyjmuje barwę jasnobrunatną, którą zachowuje przez cały czas trwania procesu rozkładowego. W końcowym stadium rozkładu tworzy ono zwykle bezpostaciową masę, która łatwo kruszy się w palcach, a przy wyschnięciu charakterystycznie pęka i rozpada się na nieregularne kostki. Posiada ono wtedy dość przyjemny zapach podobny do tego, jaki wydziela drewno rozłożone przez inne grzyby wywołujące również brunatną zgniliznę drewna iglastego, a zwłaszcza przez *Sparassis crispa* Wulf. i *Phaeolus schweinitzii* (Fr.) Pat.

Sam proces rozkładu drewna przebiega dość szybko. Wniosek ten wynika z doświadczenia laboratoryjnego, w którym odpowiednio przycięte i przygotowane klocki (o wymiarach 5×2,5×1,5 cm), pochodzące ze świeżo ściętego twardzielowego drewna sosnowego poddano przez okres 3 miesięcy rozkładowemu działaniu grzybni z czystej kultury. Doświadczenie przeprowadzono w myśl powszechnie przyjętej w takich wypadkach metodyki w kolbach Kollego umieszczonych w inkubatorze w temp.

Tabela 2 — Tableau 2

Wyniki doświadczenia nad intensywnością rozkładu twardzielowego drewna sosnowego przez grzybnię *Leptoporus albidus* i *Fomes annosus* w warunkach laboratoryjnych

Les résultats de l'investigation de la force de décomposition du bois de coeur de pin par le mycelium de *Leptoporus albidus* et *Fomes annosus* dans les conditions de laboratoire

Gatunek grzyba Espèce du champignon	Liczba klocków poddanych rozkładowi Nombre des billots soumis à la décomposition	Wilgotność drewna po zakończeniu dośw. Humidité du bois après la terminaison de l'épreuve %	Ubytek masy drewna po 3 miesiącach w temp. 24° C (%) La diminution du poids du bois après trois mois en 24° C (%)			
			przy danej wilgotności drewna (przeciętnie) en humidité du bois (en moyenne)	w sumie / en somme: min. Min.	w sumie / en somme: przeciętny en moyenne	w sumie / en somme: maks. Max.
Leptoporus albidus	24	30—34	12,9	10,3	18,7	25,9
		35—39	15,8			
		40—44	18,4			
		45—49	21,3			
		50—59	21,6			
		60—69	19,9			
Fomes annosus	24	30—34	2,1	1,8	2,9	4,4
		35—39	2,7			
		40—44	3,3			
		45—49	4,1			

24°C. Dla porównania i kontroli poddano równocześnie to samo drewno w tych samych warunkach rozkładowemu działaniu grzybni *Fomes annosus* (Fr.) Cooke, pospolitego patogena, o znanej ogólnie sile rozkładowej drewna iglastego. Wyniki doświadczenia zestawiono w tabeli 2.

Jak wynika z powyższej tabeli badana grzybnia osobnicza *Leptoporus albidus* przeciętnie prawie sześciokrotnie silniej rozkładała użyte do badań

drewno sosnowe od grzybni *Fomes annosus*. W literaturze brak jest niestety analogicznych badań nad tym grzybem. Dlatego trudno jest zdecydować, czy stwierdzone w powyższym doświadczeniu stosunkowo wysokie nasilenie rozkładu drewna jest cechą charakterystyczną dla tego gatunku w ogóle, czy też należy je przypisywać specyficznej właściwości badanej grzybni osobniczej z okolic Siemianic. Dla orientacji warto przytoczyć wyniki analogicznie przeprowadzonego doświadczenia Liesego (1928) nad intensywnością rozkładu twardzielowego drewna sosnowego przez różne, szczególnie szkodliwe grzyby leśne i domowe. Między innymi stwierdził on, że procentowy ubytek wagi drewna wywołany rozkładowym działaniem grzybni wynosił po czterech miesiącach dla *Fomes annosus* — 3%, *Phellinus pini* (Thore ex Fr.) Pil. — 5,8%, *Serpula lacrymans* (Wulf.) S. F. Gray — 8,0%, *Coniophora cerebella* (Pers.) Duby — 25%. Badana więc grzybnia osobnicza *L. albidus* niewiele ustępowałaby najgroźniejszym grzybom w intensywności rozkładania drewna sosnowego. Ponadto z ostatniej kolumny tabeli 2 widać, że procent ubytku wagi drewna spowodowany rozkładowym działaniem grzybni *L. albidus* wahał się w przeprowadzonym doświadczeniu w dość szerokich granicach. Odpowiednie dane tej tabeli sugerują, że mogło to zależeć między innymi również od stosunków wilgotnościowych badanego drewna.

STRESZCZENIE

Autor uzasadnia konieczność podania diagnozy grzyba *Leptoporus albidus* (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. pomijaniem tego dość pospolitego gatunku w nowszej polskiej literaturze mikologicznej i fitopatologicznej. Prawie wszystkie bowiem stanowiska tego gatunku znane dotychczas w Polsce podane zostały 60—70 lat temu.

Diagnoza obejmuje:

1. Opis owocników dokonany na podstawie materiału zebranego przez autora na 11 różnych stanowiskach w Polsce w latach 1956—1958,

2. Opis kultury grzyba na agarze maltozowym,

3. Opis zgnilizny wraz z danymi charakteryzującymi intensywność procesu rozkładowego w warunkach laboratoryjnych.

Charakterystyczną cechą zebranych owocników były przeważnie ich stosunkowo drobne pory oraz dość duża zmienność grubości strzępek tramy. Kulturę cechowała między innymi skłonność do tworzenia owocników w obecności drewna sosnowego, a zgniliznę typu brunatnego stosun-

kowo szybko postępująca degradacja drewna, wyrażająca się przeciętnym ubytkiem wagi wynoszącym 18,7% w ciągu 3 miesięcy wobec 2,9% u *Fomes annosus* w tych samych warunkach (tab. 2).

Stacja Entomologiczno-Fitopatologiczna
Poznańskiej Wyższej Szkoły Rolniczej
w Siemianicach

(Wpłynęło dn. 25.5.1960 r.)

RESUMÉ

Leptoporus albidus (Schaeff. ex Secr.) Bourd. et Galz. a été peu connu jusqu'à present dans la litterature mycologique et phytopathologique polonaise. Quelques endroits où il a été récolté en Pologne il y a 60—70 ans — ont été donnés par Błoński (1887), Schröter (1889), Kwieciński (1896) et Bresadola (1903). En vertu des materiaux assemblés en 1956—1958 par lui-même en 11 localités (tab. 1) l'auteur donne son diagnostic composé de la déscription des réceptacles, de la culture et de la pourriture causée. Cette espèce est assez abondante dans les forêts de conifères en Pologne sur bois, souches et même sur les troncs vivant et racines, particulièrement de *Picea excelsa*, denudées de l'écorce (fig. 1). Les réceptacles ont été pour la plupart individuels, effuso-réfléchis à dimidiés ou conchoides avec la base rétrécie en forme de stipe, applanis ou plus ou moins déprimés vers la base; chapeau blanc puis jaunissant ou devenant clair brun surtout sur le sec; tubes concolores; pores aussi concolores, chez les uns 0,09—0,22 mm, chez les autres 0,13—0,4 mm de diamétre, arrondis, puis un peu oblongs, rerament oblongs ou labirynthiques, d'abord pruineux, enfin faiblement dentés, excretant parfois des gouttes liquides, qui laissent de petites depressions dans la couche des tubes. Trame molle, succulente, fibreuse, enfin le plus souvent très dure comme un os, de saveur très amère et brûlante, composée d'hyphes à parois minces ou rarement à parois épaisses, bouclées. Spores cylindriques-ellipsoides, hyalines, lisses.

La culture sur l'agaragar de maltose d'abord blanchâtre en forme d'un toison fin et uniforme, puis plus ou moins blanche, irregulièrement flocconeuse, formant cà et là des petits tas blancs, composés de mycelium plus compact. Hyphes à parois minces, hyalines, lisses, bouclées, ramifiées, épaisses 2—6 μ ou inegalement épaisses, quelquefois avec des vesicules même 13,5 μ de diamètre et le plus souvent sans boucles. Le bois de pin placé sur les cultures a produit un effet stimulant à former des réceptacles.

Le champignon a causé une pourriture brune assez active (tab. 2).

LITERATURA

Berdau F., 1876. Grzyby jadalne i jadowite krajowe, Encyklopedia rolnictwa 3: 75—155, Warszawa.

Błoński F., 1888, Spis roślin skrytokwiatowych zebranych w r. 1887 w Puszczy Białowieskiej, Pam. Fizj. 8, Dz. III: 75—119, Warszawa.

Błoński F., 1890, Wyniki poszukiwań florystycznych skrytokwiatowych, dokonanych w ciągu lata r. 1889 w obrębie 5-ciu powiatów Królestwa Polskiego, Pam. Fizj. 10, Dz. III: 129—190, Warszawa.

Błoński F., 1896, Przyczynek do flory grzybów Polski, Pam. Fizj. 14, Dz. III: 63—93.

Błoński F., Drymer K., 1889, Sprawozdanie z wycieczki botanicznej odbytej w Puszczy Białowieskiej, Ladzkiej i Świsłockiej w 1888 r., Pam. Fizj. 9, Dz. III, 55—166, Warszawa.

Bondarcew A. S., 1953, Trutowyje griby Jewropiejskoj czasti SSSR i Kawkaza, Moskwa-Leningrad.

Bourdot H., Galzin A., 1928, Hyménomycètes de France, Paul Lechevalier, Paris.

Bresadola J., 1903, Fungi polonici, Ann. Mycol. 1 (1—2): 65—131, Berlin.

Cartwright K. S. G., Findlay W. P. K., 1946, Decay of Timber and its Prevention, London.

Davidson R. W., Campbell W. A., Blaisdell D. J., 1938, Differentiation of Wood-decaying Fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium, Journ. of Agric. Res. 57 (9): 683—695, Washington.

Eichler B., 1904, Drugi przyczynek do flory grzybów okolic Międzyrzeca, Pam. Fizj. 18, Dz. III; 1—31, Warszawa.

Fries E., 1821, Systema Mycologicum V. I, Gryphiswaldiae.

Kwieciński F. 1896, Roślinność gminy Hańsk powiatu włodawskiego, Pam. Fizj. 14, Dz. III.: 27—61, Warszawa.

Liese J., 1928, Verhalten holzzerstörender Pilze gegenüber verschiedenen Holzarten und Gifftstoffe, Angew. Bot. 10: 156—170.

Nobles M. K., 1958, Cultural Characters as a Guide to the Taxonomy and Phylogeny of the *Polyporaceae*, Can. Journ. of Botany 38: 883—926.

Persoon D. C. H., 1801, Synopsis Methodica Fungorum, Pars Prima, Gottingae.

Pilát A., 1936—1942, *Polyporaceae*, Atlas des champignons de l'Europe, Tome III, Prague.

Romell L., 1926, Remarks on some species of *Polyporus*, Svensk Botanisk Tidskrift 20: 1—24.

Rypáček V., 1957, Biologie drevokaznych hub, Nakl. ČAV, Praha.

Schröter J., 1889, Die Pilze Schlesiens. Kryptogamen-Flora von Schlesien. Dritter Band, Erste Hälfte, Breslau.

Skirgiełło A., 1959, Notatki mikologiczne z okolic Krościenka, Mon. Bot. 8: 229—235.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Oksydazy końcowe tkanek roślinnych hodowanych in vitro Cz. I. Działanie inhibitorów oddechowych. Oksydazy miedziowe

Terminal oxidases in plant tissues cultivated in vitro. I. The effect of respiratory inhibitors. Copper oxidases.

JADWIGA MICHEJDA

WSTĘP

W ostatnich latach prowadzone były liczne badania nad mechanizmem oddychania roślin wyższych. Obszerna literatura dotycząca tego problemu została zebrana w szeregu opracowań referatowych (James 1953, 1954, 1957, Hartree 1957, Smith, Chance 1958, Hackett 1959).

Wiemy dzisiaj, że najbardziej rozpowszechnionym u roślin wyższych systemem czynnym w transporcie elektronów między dehydrogenazami i tlenem atmosferycznym jest system cytochromowy, który w każdym razie jest decydującym dla wzrostu (Hackett, Schneiderman 1953, Eichenberger, Thimann 1957), dla pobierania wody (Hackett, Schneiderman, Thimann 1953) oraz pobierania i akumulacji soli mineralnych przez korzenie i tkanki roślinne (Lundegårdh 1954). System cytochromowy jest obecnie znajdowany w tych obiektach roślinnych, w których dotychczas były trudności z jego wykryciem w związku z koniecznością utrzymania odpowiedniego pH w czasie preparowania tkanki (Lieberman 1958) lub koniecznością zastosowania specjalnie udoskonalonej techniki badań (James, Lundegårdh 1959).

Badania nad lokalizacją enzymów oddechowych w obrębie komórki roślinnej doprowadziły do wniosku, że — podobnie jak w komórkach zwierzęcych — reakcje utlenienia i fosforylacji związane z cyklem kwasów trójkarboksylowych są zlokalizowane w mitochondriach (Millerd, Bonner 1953, Goodard, Stafford 1954, Hackett 1955). Ma to miejsce zarówno w tkankach bezzieleniowych, jak i zawierających chloroplasty, co zostało stwierdzone w szeregu nowszych prac (Smillie, 1955, 1956, Sisakjan, Bekina, Mosolova 1957, James, Das 1957, Pierpoint 1959).

Co do roli oksydaz miedziowych w metabolizmie oddechowym tkanek roślinnych zdania są podzielone. Większość wyników skłania jednak do wniosku, że o ile oksydaza kwasu askorbinowego może w pewnych warunkach działać jako oksydaza końcowa (Mapson, 1958), to rola oksydazy wielofenolowej ogranicza się raczej do oksydoredukcji beztlenowych (Bonner 1957, James 1957).

Liczne prace wskazują na zmienność i adaptatywny charakter enzymów oddechowych u roślin wyższych. Wykazano zależność aktywności poszczególnych enzymów oraz przesunięcia równowagi między układami enzymatycznymi pod wpływem szeregu czynników, takich jak wiek rośliny lub organu (Fortini 1956, Howard, Yamaguchi 1957, 1957a, Rubin 1955), światło (Rubin, Černavina, Micheeva 1955, Weinstein, Robbins 1955) długość dnia (Čajlachjan, Bojarkin 1955), wartość osmotyczna tkanki (Laties 1954, Thimann, Yocum, Hackett 1954), pierwiastki śladowe (Brown, Steinberg 1953) i infekcje wirusowe (Vager 1955). Wobec olbrzymiej ilości prac dotyczących enzymów oddechowych w różnych organach różnych gatunków roślin, stosunkowo niewiele poświęcono uwagi tym enzymom w tkankach roślinnych hodowanych in vitro. Dotychczasowe badania obejmowały głównie katalazę i peroksydazę (Czosnowski 1952, Camus, Lence 1955, Morel, Demetriades 1955) oraz oksydazę wielofenolową (Morel, Demetriades 1955, Loo, Lie 1957). Wyjątkowo badane były inne enzymy, zwłaszcza układu cytochromowego (Gentile, Naylor 1955).

Ponieważ wydaje się, że tkanki roślinne hodowane in vitro mogłyby stanowić dobry materiał do badań nad enzymami oddechowymi, zwłaszcza nad ich zdolnościami adaptatywnymi, podjęto badania nad kilkoma z nich. Celem tych badań było przede wszystkim stwierdzenie obecności enzymów mogących grać rolę oksydaz końcowych i udziału ich w oddychaniu tkanek.

W pierwszej części pracy zajęto się pomiarami zapotrzebowania tlenowego skrawków czterech tkanek hodowanych in vitro, ich współczynników oddechowych, wpływem inhibitorów oddechowych na zapotrzebowanie tlenowe oraz wykryciem ewentualnych oksydaz miedziowych w homogenatach całkowitych tkanek i pewnych ich frakcjach.

Skróty stosowane w pracy:

Dc — tkanka *Daucus carota*
Pt — tkanka *Parthenocissus tricuspidata*
Sh — tkanka *Scorzonera hispanica*
Om — tkanka *Opuntia monacantha*
DDC — dwuetylodwutiokarbaminian sodu
EDTA — kwas etylenodwuaminoczterooctowy

AA — kwas askorbinowy
AA-ox — oksydaza kwasu askorbinowego
RQ — współczynnik oddechowy
QO_2 — µl O_2/1 g św. masy tkanki/godz.

MATERIAŁ I METODY

Tkanki.

Do doświadczeń użyto czterech następujących tkanek roślinnych hodowanych *in vitro* (Gautheret 1954):

Gatunek	Typ tkanki
Daucus carota	anergizowana*
Parthenocissus tricuspidata	,,
Scorzonera hispanica	Crown-Gall
Opuntia monacantha	,, ,,

Tkanki hodowano w temp. 24°C na stałym świetle sztucznym (lampy jarzeniowe, intensywność oświetlenia — 600 lux), w probówkach 23×120 mm, zawierających po 12,5 ml pożywki. Wszystkie wymienione tkanki hodowane były na pożywce o następującym składzie: pożywka mineralna wg Hellera (1952), sacharoza 2%, agar. 0,6%. Doświadczenia przeprowadzano w miesiącach: od kwietnia do czerwca na tkankach liczących 6—7 tygodni od przeszczepienia.

Pomiary oddychania.

Wyjęte z probówki hodowlanej tkanki oczyszczano z agaru oraz odcinano część dolną, często zawierającą części znekrozowane. Tkanki cięto na skrawki grubości 0,5 mm, po czym odważano porcje 0,7 g lub 0,2 g i każdą umieszczano w 10 ml 1/15 M buforu fosforanowego o pH 6 lub 7, mieszając co pewien czas. Po upływie 2 godzin skrawki odsączano na bibule filtracyjnej i przenoszono do naczyniek Warburga zawierających ten sam bufor, jaki był użyty do płukania skrawków. Spośród badanych tkanek *Pt* była specjalnie trudnym obiektem do pokrajania na skrawki z uwagi na bardzo luźną strukturę tkanki i z tego powodu kontrola nad grubością skrawków była utrudniona.

Oddychanie skrawków oraz inhibicję tego oddychania mierzono metodą manometryczną, w naczyńkach Warburga o całkowitej pojemności 15—20 ml. Wyjątkowo, z uwagi na małą ilość materiału (*Pt*) stosowano naczyńka o pojemności 7 ml. Objętość fazy płynnej wynosiła odpowied-

* Tissus anergiés (Gautheret 1959).

nio 2,5 oraz 0,8 ml. Do naczyniek dawano 0,7 lub 0,2 g skrawków. Studzienki zawierały 0,1—0,2 ml KOH 1 N. Pomiarów dokonywano w temperaturze 25°C, wyrównanie termiczne wynosiło 15 minut, oscylacja 110/minutę, amplituda wychyleń 50 mm. Odczyty manometryczne dokonywano co 20 minut przez 2 godziny. Oddychanie przebiegało liniowo przez przynajmniej 3 godziny. Aby uniezależnić się od indywidualnych różnic w oddychaniu poszczególnych tkanek, pomiarów inhibicji oddychania dokonywano w tych samych naczyńkach, w których uprzednio badano zużycie tlenu bez dodatku inhibitora, dodając przewężoną mikropipetką 10—100 µl odpowiednio stężonego roztworu inhibitora. Przy stosowaniu KCN zawartość studzienki wymieniano na odpowiednią mieszaninę KOH i KCN wg proporcji podanych przez Krebsa (1935). Współczynniki oddechowe mierzono metodą różnicową, mierząc spadek ciśnienia w naczyńku Warburga najpierw bez dodatku ługu, a następnie po 1,5 godz. pomiarów dodając ług do studzienki.

Homogenaty tkanek.

Świeżo wyjęte z probówek hodowlanych i oczyszczone z agaru tkanki odważano (2—4 g) i rozcierano w przechłodzonym porcelanowym moździerzu z dodatkiem podwójnej ilości przechłodzonego buforu fosforanowego 0,18 M o pH 6,5 (dla oznaczania AA-ox) lub pH 7,0 (dla oznaczania fenolaz). pH homogenatów wynosiło odpowiednio 6,3 i 6,6. Po wstępnym roztarciu w moździerzu miazgę tkanki przenoszono do homogenizatora teflonowego i homogenizowano przez 30 sek. przy 1000 obr./min. w łaźni o temp. 0°C.

Preparowanie frakcji cząstkowych tkanek

Przy preparowaniu frakcji cząstkowych wszystkich wymienionych tkanek używano trzech roztworów:

Roztwór A — 0,4 M sacharoza,
0,002 M EDTA,
0,1 M bufor fosforanowy wg Sörensena pH 7,0,
Roztwór B — 0,4 M sacharoza,
0,01 M bufor fosforanowy pH 7,0,
Roztwór C — 0,2 M sacharoza,
0,005 M bufor fosforanowy pH 7,0.

Roztwór A jest około dwukrotnie hipertoniczny w stosunku do tkanek, których wartość osmotyczna mierzona metodą mikro-kryoskopową wynosiła średnio: $\Delta t = 0{,}5°$ (0,27 osmM). Roztwór C jest nieco hipotoniczny w stosunku do tkanek. EDTA dodawano ze względu na jego stabilizujący i aktywujący wpływ na systemy oksydazowe izolowanych mitochondrii roślinnych (Lieberman, Biale 1955). 6—7 g tkanki rozcierano w przemrożonym moździerzu z 14 ml przechłodzonego płynu A. Otrzymaną masę sączono przez muślin i przesącz wirowano przez 8 minut przy 1000 x g używając wirówki Servall SS-1 umieszczonej w zamrażarce w temp. 0—2°C. Supernatant wirowano przez 15 min. przy 11500 x g. Uzyskany osad resuspendowano w homogenizatorze w 14 ml. płynu B, po czym wirowano ponownie przez 10 min. przy 14500 x g. Osad resuspendowano w 0,5—2 ml roztworu C w małym homogenizatorze teflonowym (Thomas Co.). Wszystkie czynności związane z preparowaniem frakcji cząstkowych przeprowadzano w temperaturze 0—4°C, używając przechłodzonych naczyń i płynów. Opisany sposób preparowania był zbliżony do stosowanych powszechnie metod otrzymywania aktywnych mitochondrii, wykazujących silny układ oksydazy kwasu bursztynowego (Bonner, Machlis 1957) i fosforylację tlenową (Freebairn, Remmert 1957).

Oznaczanie białka

Białko w preparatach frakcji cząstkowych oznaczano kolorymetrycznie metodą biuretową (Gornall, Bardewill 1949) z pewnymi modyfikacjami. Po płukaniu osadu etanolem 96% odparowywano alkohol zupełnie i osad rozpuszczano w 1 ml odczynnika biuretowego rozcieńczonego (4+1) wodą. Ponieważ żaden z badanych preparatów nie rozpuszczał się w odczynniku biuretowym bez reszty, a pozostawała pewna ilość bezbarwnego osadu, przeprowadzono próbę na reproduktywność metody i proporcjonalność reakcji barwnej do ilości podanego preparatu z tkanki marchwi. Próby wykazały zarowno proporcjonalność, jak i reproduktywność około 5%. Konieczne było jedynie dodatkowe wirowanie płynu barwnego przed pomiarem w spektrofotometrze przy 540 mμ.

Pomiary aktywności enzymów

Aktywność enzymów mierzono manometrycznie w naczyńkach Warburga z bocznym tubusem, o pojemności całkowitej 7 ml, w temp. 25°C, przy oscylacji 120/min. Objętość całkowita fazy płynnej wynosiła 1 ml, wyrównanie termiczne — 10 min. Odczytów manometrycznych dokony-

wano co 5 minut, a dla pomiaru aktywności fenolaz również co 30 sekund. KOH do studzienek nie podawano.

Substrat dawano do bocznych tubusów. Po wyrównaniu termicznym zamykano układ i w odstępach 2 minut dokonywano kilku odczytów dla wykrycia ewentualnego autogennego zużycia tlenu, po czym przelewano z bocznego tubusa substrat i minutę po tym rozpoczynano właściwe pomiary. Naczyńka Warburga w końcowych stężeniach zawierały:

Oksydaza kwasu askorbinowego (zasadniczo wg Dawsona i Magee (1955) z nieznacznymi zmianami):

AA (sól sodowa)	—	0,02 M
żelatyna	—	0,1%
bufor fosforanowy pH 6,0	—	0,13 M

pH mieszaniny po zakończeniu pomiaru wynosiło 6—6,2

Katecholaza:

Katechol (pirokatechina)	—	0,015 M
żelatyna	—	0,05%
bufor fosforanowy pH 7,0	—	0,13 M

pH mieszaniny po zakończeniu pomiaru wynosiło 6,5

Krezolaza: (Dawson, Magee, 1955):

p-krezol	—	0,015 M
żelatyna	—	0,1%
bufor fosforanowy pH 7,0	—	0,13 M

Odczynniki

Do przygotowania wszystkich odczynników oraz do mycia szkła używano wyłącznie wody podwójnie destylowanej z aparatu szklanego. Bufory fosforanowe wg Sörensena przygotowywano każdorazowo na świeżo przedestylowanej wodzie. Roztwory DDC sporządzano w buforze pH 7,0 w stęż. 0,1 M dla inhibicji AA—ox w homogenatach oraz 0,3 M dla inhibicji oddychania skrawków. Roztwory KCN dla inhibicji oddychania skrawków sporządzano w buforze pH 6.0 i korygowano do tego pH pod kontrolą elektrody szklanej.

WYNIKI DOŚWIADCZALNE

W tabeli 1 zebrano wyniki uzyskane z kilku oddzielnych doświadczeń. Każda liczba jest średnią z 2—3 równolegle prowadzonych pomiarów.

Tabela 1 — Table 1

Oddychanie (QO_2) i stopień jego zahamowania przez inhibitory oddechowe oraz wartości RQ skrawków tkanek roślinnych hodowanych in witro. Wpływ inhibitorów podano w % zahamowania zużycia tlenu w czasie 20—140 minut od momentu podania inhibitora

Oxygen consumption (QO_2), its inhibition by respiratory inhibitors and RQ of slices of tissues cultivated in vitro. QO_2 expressed in μl O_2 per gram fresh mass per hour. The inhibition is given as the per cent decrease of QO_2 for the period of time between 20—140 minutes after inhibitor added

Tkanka Tissue	QO_2		RQ	KCN (pH = 6,0)			NaN_3	DDC(pH = 7,0)	
	pH-6	pH-7		10^{-4} M	10^{-3} M	5×10^{-3} M	10^{-3} M	5×10^{-4} M	2×10^{-3} M
Daucus carota	32	51	1,08	18	33	80	89	32	50
	54	40	1,12	14	54	83	80	33	47
	53	40	1,09	10	40		82		65
	66	51	0,95		40				65
Średnia Average	51	46	1,06	14	42	82	84	33	57
Scorzonera hispanica	41	53	0,73	27	44	65	72	33	74
	51	50	0,65	8	47	66	73	43	71
	63	40	0,57	18					
	63	39	0,77						
Średnia Average	51	45	0,68	18	45	66	73	38	73
Parthenocissus tricuspidata	29	31	0,94	33	65	84	78	74	85
	32	32	0,90	54	81			81	
	40	30	1,01						
	40	31							
Średnia Average	35	31	0,95	44	73	84	78	78	85
Opuntia monacantha	21	22	0,59	7	44	—	75	14	48
	20	22	0,56	20	47		79	14	41
	22	19	0,55	14					
	18	23	0,57	11					
Średnia Average	20	22	0,57	13	46	—	77	14	45

Porównanie intensywności oddychania w buforze o pH 6,0 i 7,0 wykazuje nieznaczne różnice na korzyść pH 6,0, z wyjątkiem tkanki *Om* nie wykazującej zasadniczo różnicy pod tym względem.

Stosowanie dwóch różnych pH było wskazane ze względu na dodawane inhibitory (James 1953). Średnie wartości QO_2 są równe dla *Dc* i *Sh* (= 51), podczas gdy dla *Pt* i *Om* są znacznie niższe. Wartości RQ są wyraźnie różne dla poszczególnych tkanek. Są one zbliżone do 1 dla *Dc* i *Pt* i mniejsze od 1 (0,68 i 0,57) dla *Sh* i *Om*.

Tabela 2 — Table 2

Aktywność oksydaz miedziowych w całkowitych homogenatach tkanek wyrażona w µl O_2/0,1 g św. masy tkanki/godz. Do naczyniek Warburga dawano ekwiwalent 0,06 i 0,12 g św. masy tkanki na 1 ml ostatecznej objętości fazy płynnej

The activity of copper-oxidases in total homogenates of tissues expressed in µl O_2 per 0,1 g fresh mass of tissue per 1 hour. The equivalent of 0,06 or 0,12 g of the original tissue added to the Warburg flasks. Total volume of the fluid phaze — 1 ml

Tkanka Tissue	AA-ox	Fenolaza Fenolase: akt. katecholazowa catecholase activ.	Fenolaza Fenolase: akt. krezolazowa cresolase activ.
Opuntia monacantha	6	0	0
Scorzonera hispanica	11	105	0—3
Parthenocissus tricuspidata	13	36	0
Daucus carota	124	0	0

Jako inhibitorów oddechowych dla skrawków tkanek użyto KCN, NaN_3 i DDC. KCN w stężeniu końcowym 10^{-4} M jest słabym inhibitorem oddechowym dla większości tkanek (ok. 15%) zahamowania). Jedynie wrażliwą w większym stopniu okazała się tkanka *Pt*, co być może jest spowodowane bardzo luźną strukturą tej tkanki, umożliwiającą łatwiejsze wnikanie inhibitora do wnętrza tkanki. KCN w stęż. 10^{-3} M hamuje oddychanie w ok. 45%, przy czym znowu w tkance *Pt* inhibicja jest wyższa i wynosi ok. 75%. Najwyższe użyte stężenie KCN 5×10^{-3} M hamowało oddychanie *Dc* i *Pt* w ponad 80%, a *Sh* 65%. NaN_3 użyty w jednym tylko stężeniu 10^{-3} M, okazał się silnym inhibitorem i hamował oddychanie wszystkich tkanek w 75—85%.

NaN_3 i KCN dodawane były do skrawkow w buforze o pH 6,0, DDC w buforze o pH 7,0. Niższe z użytych stężeń DDC (5×10^{-4} M) przyjmuje się jeszcze za specyficzne w swoim działaniu na oksydazy miedzio-

we, podczas gdy stężenia wyższe hamują również znacznie aktywność oksydazy cytochromowej (James, Garton 1952).

Uderzająco wysokie zahamowanie oddychania przez DDC znajdujemy w tkance *Pt*, co również może być wywołane strukturą tej tkanki, przy czym działanie DDC jest tu silniejsze niż innych inhibitorów. Najsłabsze hamowanie oddychania przez DDC ma miejsce w tkance *Om*, w której również w dalszym ciągu pracy nie wykryto oksydaz miedziowych.

Aktywności oksydaz miedziowych w całkowitych homogenatach z poszczególnych tkanek przedstawia tabela 2.

W tkance *Dc* jedynym wykrytym spośród badanych enzymów jest AA—ox. Po zagotowaniu homogenatu aktywność znika całkowicie, a DDC już w stężeniu 5×10^{-4} hamuje ją w 100%. Homogenat tkanki *Dc* nie wykazywał autogennego zużycia tlenu, podobnie jak homogenaty innych tkanek.

W tkance *Om* nie stwierdzono obecności fenolaz, a aktywność AA—ox jest bardzo słaba. Zagotowanie niszczy ją całkowicie. W tkance *Pt* obok słabej AA—ox stwierdzono prawie trzykrotnie wyższą od niej aktywność katecholazową. Zużycie tlenu przebiegało liniowo przez pierwsze 20 min. Aktywność ta była całkowicie hamowana przez zagotowanie.

W tkance *Sh* znaleziono słabą aktywność AA—ox. Zagotowanie homogenatu hamowało jedynie 75% jej aktywności. Zużycie tlenu po dodaniu katecholu przebiegało parabolicznie i wygasało po 10 minutach. Pomiary dokonywane co 30 sekund pozwoliły na wykreślenie liniowego odcinka krzywej w pierwszych dwóch minutach od momentu podania substratu. Aktywność podana w tabeli 2 jest obliczona na postawie takiego odcinka. Zawartość naczyniek Warburga po kilkunastu minutach wybitnie ciemniała. Sam homogenat przechowywany przez 2 godziny w temp. 0°C nieznacznie ciemniał, w temp. 20°C bardzo szybko brunatniał.

Krótkotrwałość aktywności katecholazowej w tkance *Sh* wywołana jest prawdopodobnie obecnością toksycznych dla reakcji produktów utlenienia katecholu (Nelson, Dawson 1944).

Tkanka *Sh* wykazywała bardzo słabą, trudną do zmierzenia aktywność krezolazową, nie przekraczającą 3 μlO_2/godz/0,1 g tkanki.

Oznaczenia aktywności AA—ox, katecholazy i krezolazy dokonano również w preparatach frakcji cząstkowych tkanek *Om, Dc* i *Sh* uzyskanych sposobem opisanym w części metodycznej. Wykryto jedynie aktywność AA—ox w preparatach z tkanki *Dc* oraz aktywność katecholazową w preparatach z tkanki *Sh*. Dla dokładniejszego określenia lokalizacji wymienionych enzymów oznaczono ich aktywności również w innych frakcjach filtrowanych homogenatów tkanek *Sh* i *Dc*. Wyniki uzy-

skane dla różnych frakcji filtrowanego homogenatu tkanki *Sh* przedstawia tabela 3. Z tabeli tej wynika, że aktywność katecholazowa w tkance *Sh* związana jest głównie z frakcją nie sedymentującą przy 11500 x g w ciągu 15 minut. Nieznaczna aktywność wykryta w osadzie I, który nie był płukany, może w znacznej mierze pochodzić z resztek supernatantu, natomiast aktywność frakcji cząstkowej (płukanej płynem B) jest niewątpliwie związana z tą frakcją. Należy dodać, że supernatant pozostawiony w temperaturze pokojowej bardzo szybko brunatniał.

Tabela 3 — Table 3

Aktywność katecholazowa w poszczególnych frakcjach sączonego homogenatu tkanki *Scorzonera hispanica* wyrażona w µl O_2/0,1 g św. masy/godz. Osad I — frakcja odwirowana przy 1000× g przez 8 min. Osad II — frakcja odwirowana przy 11500× g przez 15 min. Supernatant — pozostałość po odwirowaniu osadu II. Skład płynu A i C podany w części metodycznej pracy

The catecholase activity of individual fractions of the filtered homogenate from *Scorzonera hispanica* tissue, expressed in µl O_2 per 0,1 g fresh mass per hour. The I sediment obtained by centrifugation at 1000× g for 8 min, II sediment at 11500× g for 15 min. Supernatant includes all the constituents not sedimented by this force. Composition of the medium A and C explained in Summary

Frakcja Fraction	Aktywność Activity	% udziału danej frakcji w całkowitej aktywności filtrowanego homogenatu Part taken by given fraction in the activity of filtered homogenate (in %)
Supernatant (w płynie A) Supernatant (in medium A)	70	75
Osad I (w pł. C) I sediment (in medium C)	6	6,5
Osad II (w pł. C) (frakcja mitochondrialna) II sediment (in med. C) (mitochondrial fraction)	17	18,5

Gdy porównamy sumaryczną aktywność wszystkich frakcji filtrowanego homogenatu tkanki *Sh* (= 93) z aktywnością całkowitych homogenatów (= 105, tabela 2), widzimy, że na gruby osad odrzucany przy filtrowaniu homogenatu, a zawierający głównie fragmenty błon komórkowych, przypada najwyżej 10%. Tak więc należy uznać katecholazę w tkance *Sh* za enzym w głównej mierze rozpuszczalny (lub związany z cząstkami submitochondrialnymi), a w mniejszym stopniu związany z frakcją mitochondrialną tkanki.

Aktywność AA—ox w poszczególnych frakcjach filtrowanego homogenatu tkanki *Dc* przedstawia tabela 4. Pierwszym wnioskiem z tej ta-

beli jest mała wrażliwość AA—ox na wartość osmotyczną (różnica stężeń płynów A i C).

Frakcje badane w płynie A zawierającym EDTA posiadały podobne aktywności AA—ox jak frakcje w płynie C (bez EDTA). Brak inhibicji przez EDTA wskazuje na rzeczywistą aktywność AA—ox, a nie katalizę nieenzymatyczną jonów miedzi — kryterium wysunięte przez Hallaway i Butta (1958). We wszystkich frakcjach pobieranie tlenu było prawie całkowicie hamowane przez DDC w stężeniu końcowym 5×10^{-4}M dodawanego do naczyniek Warburga po 30 minutach wstępnych pomia-

Tabela 4 — Table 4

Aktywność AA-ox w poszczególnych frakcjach sączonego homogenatu tkanki *Daucus carota* wyrażona w μl O_2//0,1 g św. masy/godz. Oznaczenia: Osad I, osad II, supernatant, płyn A i C — jak w tabeli 3. Cyfry w nawiasach oznaczają % zahamowania przez DDC o stężeniu końcowym 5×10^{-4} M

The ascorbic acid oxidase activity in individual fractions of the filtered homogenate from *Daucus carota* tissue, expressed in μl O_2 per 0,1 g fresh mass per hour. The fractions as in Table 3. Figures in parenthesis give the percent of the inhibition by DDC (5×10^{-4} M)

Frakcja Fraction	Aktywność AA-ox w płynie A Ascorbic acid oxidase activity in medium A	Aktywność AA-ox w płynie C Ascorbic acid oxidase activity in medium C	% udziału danej frakcji w płynie A w całkowitej aktywności part taken by the fraction (in medium A) in the total activity of filtered homogenate (in %)
Supernatant	17,8 (100)	—	64,5
Osad I I Sediment	4,1 (88)	3,6 (100)	14,8
Osad II II Sediment (frakcja mitochondrialna) (mitochondrial fraction)	5,7 (93)	5,7 (90)	20,7

rów. Z tabeli 4 wynika, że AA—ox zawarta jest we wszystkich badanych frakcjach filtrowanego homogenatu tkanki *Dc*, z wybitną przewagą supernatantu. Frakcja ta odpowiada frakcji cytoplazmatycznej wg Hansla (1955). Ponieważ supernatant nie był dalej frakcjonowany, nie można rozstrzygnąć, czy znaleziona aktywność AA—ox pochodzi z frakcji rzeczywiście rozpuszczalnej, czy też ze struktur submitochondrialnych.

Wobec panującego poglądu, wg którego aktywność AA—ox ma być związana z frakcją ścian komórkowych („cell-wall fraction") (Honda 1955, Hansl 1955) należy zaznaczyć, że jedynie osad I mógł fragmenty ścian zawierać. Obliczenie różnicy pomiędzy aktywnością całkowitego homogenatu (= 124, tab. 2) i sumaryczną aktywnością wszystkich frakcji sączonego homogenatu (= 27,6, tab. 4) wskazuje, że w najgrubszym osadzie zawierającym główną masę błon komórkowych musi być zawarte ponad 75% całkowitej aktywności AA—ox. Biorąc jednak pod uwagę brak sacharozy w całkowitych homogenatach, która wg Butta i Hallaway (1958) zwiększa rozpuszczalność tego enzymu, proporcja ta, być może, przesunięta jest na korzyść frakcji rozpuszczalnej.

Tabela 5 — Table 5

Zawartość białka i aktywność AA-ox w poszczególnych frakcjach sączonego homogenatu *Daucus carota*. Wszystkie frakcje w płynie A

Protein content and ascorbic acid oxidase activity in individual fractions of filtered homogenate from *Daucus carota* tissue. All fractions in medium A. For the other conditions see Table 3 and 4.

Frakcja Fraction	mg białka w całej obj. frakcji mg protein in the whole fraction	% zawartość białka percentage (of the fraction) of the protein	aktywność AA-ox na 1 mg białka AA-oxidase activity per 1 mg protein	Aktywn. AA-ox całej frakcji AA-oxidase activity of the total fraction	% udziału frakcji w całkowitej aktyw. percentage of the total AA-oxidase activity
Supernatant	25	73,5	92	2300	63,5
Osad I I Sediment	2,9	8,5	188	545	15,0
Osad II II Sediment	6,1	18,0	128	781	21,5

Bardzo zbliżone proporcje w rozkładzie aktywności AA—ox uzyskujemy przy przeliczeniu aktywności na ilość białka zawartego w poszczególnych frakcjach sączonego homogenatu tkanki *Dc*. Wyniki te przedstawia tabela 5.

DYSKUSJA

Dobór tkanek roślinnych hodowanych *in vitro*, reprezentujących nie tylko cztery różne gatunki, ale i różne typy fizjologiczne tkanek — był przypadkowy. Tkanki te przedstawiają różny typ metabolizmu oddecho-

wego, o czym świadczą już różne zapotrzebowania tlenowe (wszystkie tkanki hodowane były w tych samych warunkach) oraz różne współczynniki oddechowe. Daje to możliwość skonfrontowania wyników uzyskanych identycznymi metodami na tak różnym materiale i w ten sposób pomóc w interpretacji tych wyników.

Oddychanie skrawków tkanek badane było bezpośrednio po ich pocięciu i dwugodzinnym płukaniu roztworem buforowym bez równoczesnego przewietrzania w celu uniknięcia głębokich zmian zachodzących w skrawkach tkanek przy przewietrzaniu. Są to zmiany wrażliwości na dwunitrofenol i malonian (Laties 1959) oraz cyjanek i CO (Calo, Marks, Varner 1957, Thimann, Yocum, Hackett 1954). W efekcie tych zmian następuje przesunięcie w aktywności oksydaz końcowych i prawdopodobnie synteza dodatkowej oksydazy cytochromowej, której ilości były uprzednio czynnikiem ograniczającym oddychanie skrawków, co z kolei prowadzi do zwiększenia zapotrzebowania tlenowego (Calo, Marks, Varner 1957). Proces tych zmian, podlegający wpływom różnych warunków zewnętrznych (Laties 1959 a), trudny jest do skontrolowania.

Wszystkie badane tkanki są wrażliwe, jakkolwiek w różnym stopniu, na inhibicję cyjankiem i azydkiem, co świadczy o udziale oksydaz żelazowych i miedziowych w oddychaniu tych tkanek. Inhibicja DDC może być interpretowana jako specyficzna dla oksydaz miedziowych jedynie w niższym stężeniu (5×10^{-4} M) tego inhibitora (James, Garton 1952).

O ile chodzi o oksydazę kwasu askorbinowego — trzeba przyjąć jej brak w tkance *Om* oraz niewielką aktywność w tkankach *Sh* i *Pt*. W tkance *Dc* jest ona stosunkowo wysoka. Aktywność tę należy uznać za enzymatyczną ze względu na jej całkowity zanik po zagotowaniu, liniowy charakter przebiegu reakcji oraz niewrażliwość na EDTA (Mapson 1958).

Rozkład aktywności oksydazy kwasu askorbinowego na poszczególne frakcje homogenatu tkanki *Dc* zgadza się z doniesieniami o lokalizacji tego enzymu w obrębie komórki roślinnej (Mapson 1958). Inhibicja oddychania skrawków tkanki *Dc* przy użyciu DDC, jakkolwiek niezupełnie specyficzna, sugeruje możliwość działania tego enzymu w pewnym stopniu jako oksydazy końcowej, zwłaszcza gdy porównamy dwukrotnie wyższą wrażliwość tkanki *Dc* na ten inhibitor w stosunku do nie zawierającej aktywniejszych oksydaz miedziowych tkanki *Om* oraz weźmiemy pod uwagę nieobecność w tkance *Dc* oksydazy polifenolowej. Oksydaza kwasu askorbinowego nie może być jednak główną oksydazą końcową tej tkanki, ponieważ cyjanek i azydek są dla niej silniejszymi inhibitorami niż DDC. Zgadza się to również z faktem, że oksydaza kwasu askorbinowego w tkance *Dc* zlokalizowana jest głównie we frakcji błon

komórkowych, a wg doniesień Butta i Hallaway (1958) oksydaza ta nie bierze udziału w oddychaniu.

Aktywną katecholazę znaleziono jedynie w tkance *Sh* i *Pt*. W tkance *Sh* aktywność ta, jakkolwiek trzykrotnie wyższa, jest bardzo krótkotrwała w warunkach pomiaru, co dowodzić może hamującego wpływu produktów utleniania katecholu. Stąd też nie można wnioskować o wyższej aktywności katecholazy *in vivo* w tkance *Sh* w porównaniu z *Pt*.

Aktywność katecholazowa tkanki *Sh* zlokalizowana jest głównie we frakcji supernatantu po odwirowaniu przy 11500 x g przez 15 minut. zawierającego również cząstki submitochondrialne. Pozostaje to w zgodzie z ogólnym poglądem na rozpuszczalny charakter tej oksydazy (Bonner 1957).

Wrażliwość oddychania tkanek *Sh* i *Pt* na DDC (przeszło dwukrotnie wyższa od nie zawierającej oksydaz miedziowych *Om*) przy równoczesnym braku aktywniejszej oksydazy kwasu askorbinowego dopuszcza wniosek o jej działaniu jako oksydazy końcowej w tych tkankach.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW

1. Skrawki badanych tkanek wykazują zapotrzebowanie tlenowe wynoszące średnio: dla tkanek *Dc* i *Sh* — 51, dla *Pt* — 35, dla *Om* — 20 μl. O_2/g św. masy/godz. Współczynniki oddechowe są zbliżone do 1 dla tkanek *Dc* i *Pt* i mniejsze od 1 (0,68 i 0,57) dla tkanek *Sh* i *Om*.

2. KCN w stęż. 10^{-4} M hamuje oddychanie skrawków w ok. 15%, a w stęż. 10^{-3} w ok. 45% (z wyjątkiem tkanki *Pt*). NaN_3 w stęż. 10^{-3} M hamuje oddychanie w 75—85%.

3. Aktywną oksydazę kwasu askorbinowego znaleziono w tkance *Dc*. Aktywność ta jest związana głównie z frakcją błon komórkowych (ok. 75%) i w mniejszym stopniu (ok. 14%) z frakcją nie sedymentującą przy 11500 x g w ciągu 15 min.

4. Aktywną katecholazę znaleziono w tkankach *Pt* i *Sh*, przy czym w tkance *Sh* jest ona krótkotrwała i wygasa po 10 minutach. Aktywność katecholazowa związana jest głównie z frakcją nie sedymentującą przy 11500 x g w ciągu 15 min.

5. Inhibicja oddychania skrawków przy użyciu DDC w stężeniu 5×10^{-4} M jest przeszło dwukrotnie silniejsza w tkankach, w których stwierdzono obecność oksydaz miedziowych, niż w tkance *Om*, w której oksydaz tych nie znaleziono.

Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytetu im. A. Mickiewicza
w Poznaniu

(Wpłynęło dn. 30.5.1960 r.)

SUMMARY

It has been stated in recent years that the respiratory processes in the higher plants concerning both reaction paths and their localisation within plant cells are similar to analogous processes in animal tissues (Millerd, Bonner 1953, Hackett 1955, 1959, James 1957, Hartree 1957,, Smith, Chance 1958).

The specific problem in plants is still unexplained function of copper oxidases and their possible participation in plant respiration (Bonner 1957, Mapson 1958).

Numerous investigations were conducted on the respiratory mechanism in different organs of very numerous higher plant species but little attention was paid to plant tissues cultivated in vitro (Czosnowski 1952, Camus, Lence 1955, Morel, Demetriades 1955, Loo, Lie 1957, Gentile, Naylor 1955).

The purpose of the present work was to investigate the respiratory enzymes of several plant tissues, cultivated in vitro. In particular the oxygen uptake of tissue slices, their respiratory quotients, the effect of respiratory inhibitors, and the presence of copper oxidases: ascorbic acid oxidase, catecholase and cresolase were investigated.

Material and methods

Four tissues were used for the investigations (Gautheret 1954):

Tissue species	Type of tissue
Daucus carota	anergized
Parthenocissus tricuspidata	„
Scorzonera hispanica	Crown-Gall
Opuntia monacantha	„ „

All tissues were cultivated at 24°C, exposed to continuous, fluorescent light (600 lux), on the Heller's (1952) mineral nutrient with 2% sucrose and 0,6% agar added.

The oxygen uptake was measured using tissue slices 0,5 mm thick washed for 2 hours in 1/15 M phosphate buffer (Na/K) pH 6.0 or 7,0 (when DDC was used as inhibitor), at room temperature. The measurements of oxygen uptake, respiratory quotients, and influence of respiratory inhibitors were made in Warburg apparatus placing 0,7 g of tissue slices in 2.5 ml buffer solution (the same as was used for washing) in one Warburg flask.

With regard to individual differences among the tissues the respiratory inhibitors were added to the same tissue slices whose oxygen uptake had been previously measured. Using KCN, we added it also to the KOH in central vessel according to the proportions given by Krebs (1935). The tissue homogenates were made by grinding the tissue with 0,18 M phosphate buffer of pH 6,5 or 7,0 in a cooled mortar and subsequently homogenizing in a teflon homogenizer. Three solutions were used for the

particulate fraction preparations: A — 0,4 M sucrose, 0,002 M EDTA, 0,1 M phosphate buffer (Na/K) pH 7,0; B — 0,4 M sucrose, 0,01 M phosphate buffer pH 7,0; C — 0,2 M sucrose, 0,005 M phosphate buffer pH 7,0. The tissues were ground in mortar with A-solution. The pulp was then filtered through the muslin. The filtrate was centrifuged by 1000 x g for 8 minutes (S I). The supernatant was centrifuged by 11500 x g for. 15 minutes. The sediment was resuspended in solution B and then centrifuged by 14500 x g for 10 minutes. The sediment (S II) was resuspended in 0,5 — 2 ml solution C. All the operations were made at 0 — 4°C.

The activities of copper oxidases were measured with manometric method at 25°C. The final concentration in Warburg flasks were as follows:

For ascorbic acid oxidase (Dawson, Magee 1955)	sodium ascorbate	0,02 M
	gelatine	0,1%
	phosphate buffer	0,13 M pH 6,0
Catecholase	catechol	0,015 M
	gelatine	0,05%
	phosphate buffer	0,13 M pH 7,0
Cresolase	cresol	0,015 M
	gelatine	0,1%
	phosphate buffer	0,13 M pH 7,0

The protein estimations were done according to Gornall's method (Gornal, Berdewill, David 1949).

Experimental results

The results of several independent experiments are put togather in Table 1. Every figure represents the average of 2—3 simultaneous measurements. The average oxygen uptake was equal in *Daucus* and *Scorzonera* tissues and it was higher than in case of *Opuntia* or *Parthenocissus*. The respiration in buffer solution at pH 6,0 is a little more intense (except *Opuntia*) than at pH 7,0.

The respiratory quotients are different in separate tissues, which indicates the differences in their respiratory metabolism. The RQ-values are close to unity in *Daucus* and *Parthenocissus*, and smaller than unity (0,68 and 0,57) in *Scorzonera* and *Opuntia*. KCN in concentration of 10^{-4}M inhibits the respiration in about 15% and in conc. of 10^{-3} M in about 45%. *Parthenocissus* is the only exception, because it has a very loose structure and the high inhibition may be due to easier penetration of the inhibitor into tissue slices. NaN_3 in concentration of 10^{-3} M inhibits the respiration of all tissues in 75—85%. DDC in concentration of 5×10^{-4} M strongly inhibits the respiration of *Parthenocissus* and very little that of *Opuntia*.

The Table 2 shows the activities of copper oxidases in tissue homogenates. *Daucus* has the most active ascorbic acid oxidase and *Opuntia* tissue the least active. The activity is completely inhibited by heating and by adding DDC in final concentration of 5×10^{-4} M. The reaction is linear during the first 30 minutes. The catecholase activity in *Parthenocissus* tissue is durable and linear during the first 20 minutes. In the course of measurements the homogenate strongly darkens unlike the homogenate without catechol added. Although the catecholase activity in *Scorzonera* tissue is stronger, it is not durable and after 10 minutes the reaction stops. The homogenate both without or with catechol becomes dark.

The results in Table 3 indicate, that the catecholase in *Scorzonera,* tissue seems to be a soluble enzyme.

The results in Table 4 indicate low sensitivity of ascorbic acid oxidase in *Daucus* tissue to osmotic value and to EDTA. The ascorbic acid oxidase appears in all fractions of filtered homogenate from *Daucus* tissue with a considerable prevalence of supernatant (after centrifugation at 11500 x g for 15 min.). Very similar results can be obtained by calculating the ascorbic acid activity per 1 g fresh mass of the tissue (Tab. 4), as per 1 mg of protein in separate fractions (Tab. 5).

The comparison of the sum of ascorbic acid oxidase activities in all fractions of filtered homogenate with the activity of unfiltered homogenate shows, that about 75% of total activity is connected with the cell wall fragments which are removed by the filtration.

Discussion

The investigated tissues demonstrate different types of respiratory metabolism, which may be proved by their different oxygen requirements and different respiratory quotients. The tissue slices were not aerated before the measurements in order to avoid considerable changes which take place in respiratory metabolism of the tissues as a result of aeration (Thimann, Yocum, Hackett 1954, Calo, Marks, Varner 1957, Laties 1959, 1959 a).

All investigated tissues appeared sensitive to cyanide and azide, although in different extent which indicates the participation of iron- and copper-oxidases in their respiration. DDC inhibition may be interpreted as specific for copper-oxidases only in lower concentration (5×10^{-4} M) (James, Garton 1952). Ascorbic acid oxidase activity, which is comparatively high in *Daucus* tissue may be considered as enzymatic because of its complete disappearance after boiling, the linear course of the reaction, and the intensivity to EDTA (Butt, Hallaway 1958). The distribution of the ascorbic acid oxidase activity in separate fractions of homogenates from *Daucus* tissue is in accordance with the reports on the localisation of this enzyme within plant cells (Honda 1955, Hanel 1955).

The active catecholase was found in *Parthenocissus* and *Scorzonera* tissues. In *Scorzonera* this activity is very short and this may indicate the inhibition by the oxidizing products of catechol. The activity is generaly

located in supernatant after centrifugation at 11500 x g in 15 minutes, which also contains submitochondrial particles. It confirms with the general opinion that the catecholase is the soluble oxidase (Bonner 1957, James 1957).

As regards the participation of copper-oxidases in the respiration of investigated tissues the obtained results permit to conclude that there exists a possibility of ascorbic acid oxidase participation in *Daucus* and catecholase in *Scorzonera* and *Pathenocissus* tissues. The sensitivity of these tissues on DDC 5×10^{-4} M is greater than in *Opuntia* tissue, in which no considerably active copper-oxidases were found.

LITERATURA

Bonner W. D., 1957, Soluble oxidases and their functions, Ann. Rev. Plant Physiol. 8: 427.

Bonner B. A., Machlis J., 1957, Respiration of the mycella and mitochondria of the filamentous watermold *Allomyces macrogynus*, Plant Physiol. 32: 291.

Brown J. C., Steinberg R. A., 1953, Iron and copper enzymes in leaf lamina of tobacco when deficent in micronutrients or grown on calcareous and organic soils, Plant Physiol. 28: 488.

Butt V. S., Hallaway M., 1958, Ascorbic acid oxidase activity in extracts from higher plants, Biochem. J., 69: 20.

Calo N., Marks J., Varner J. E., 1957, Respiratory metabolism of aerated potato disks, Nature 180: 1142.

Camus G., Lence C., 1955, Action de la péniciline G sur le dèveloppement de tissus végétaux cultivés in vitro, Ann. Biol. 31:

Čajlachjan M. H., Bojarkin A. N., 1955, Wlijanije dliny dnia na aktiwnost' oksilitielnych fiermientov w rastienijach, DAN SSSR, 105: 592.

Czosnowski J., 1952, Charakterystyka fizjologiczna trzech typów tkanek *Vitis vinifera:* normalnej, tumora bakteryjnego (Crown-Gall) i tumora chemicznego. hodowanych in vitro, PTPN Prace Kom. Biol. 13: 189.

Dawson C. R., Magee R. J., 1955 Plant tyrosinase, Methods in enzymology II, Colowick S. P., Kaplan N. O. 987 pp. Acad. Press, New York.

Dawson C. R., Magee R. J., 1955, Ascorbic acid oxidase, Ibidem.

Eichenberger E., Thimann K. V., 1957, Terminal oxidases and growth in plant tissues. IV. On the terminal oxidases of etiolated pea internodes, Arch. Biochem. Biophys. 67: 466.

Fortini S., 1956, Respirazione, catalasi, catecolo ossidasi e contenuto in acido ascorbico in relazione all eta dei tessuti fogliari di alcune specie vegetali, Nota I Ann. sperim. agrar. 10: 195.

Freebairn H. T., Remmert L. F., 1957, Oxidative phosphorylation by sub-cellular particles from cabbage, Plant Physiol. 32: 379.

Gautheret R. J., 1954, Cataloque des cultures de tissus végétaux, Rev. gén. Bot. 61: 672.

Gautheret R. J., 1959, La culture des tissus végétaux, Masson, Paris.

Gentile A. C., Naylor A. W., 1955, The metabolism of Rumex virus tumors. Terminal respiratory enzymes, Physiol. Plantarum 8: 682.

Goodard D. R., Stafford H. A., 1954, Localization of enzymes in the cells of higher plants, Ann. Rev. Plat physiol. 5: 115.

Gornall A. G., Bardewill C. J., David M. M., 1949, Determination of serum protein by means of the biuret reaction, J. Biol. Chem. 177: 751.

Hackett D. P., Schneiderman H. A., 1953, Terminal oxidases and growth in plant tissues. I. The terminal oxidase mediating growth of Avena coleoptile and Pisum stem sections, Arch. Biochem. Biophys. 47: 190.

Hackett D. P., Schneiderman H. A., Thimann K. V., 1953, Terminal oxidases and growth in plant tissues. II. The terminal oxidase mediating water uptake by potato tissue, Arch. Biochem. Biophys. 47: 205.

Hackett D. P., 1959, Respiratory mechanisms in higher plants, Ann. Rev. Plant. Physiol., 10: 113.

Hackett D. P., 1955, Recent studies on plant mitochondria, Int. Rev. Cytol 4: 143.

Hansl N. R., 1955, Respiratory enzyme systems of Avena and their influence on growth, Österr. Akad. Wiss., Math.-naturw. 164: 25 (Chemical Abstracts 50: 5846, 1956).

Hartree E. F., 1957, Cytochrome in higher plants, Advanc. Enzymol. 18: 1.

Heller R., 1952, Recherches sur la nutrition minérale de tissus végétaux cultivés in vitro, Thèse, Paris 223 pp.

Honda S. J., 1955, Ascorbic acid oxidase in barley roots, Plant Physiol., 30: 174.

Howard F. D., Yamaguchi M., 1957, Respiratory and the oxidative activity of particulate fractions from developing pepper fruits (Capsicum annuum L.). Plant Physiol. 32: 418.

Howard F. D., Yamaguchi M., 1957, Hydrogen transport and oxidative phosphorylation by particulates from developing pepper fruits. Plant Physiol. 32: 424.

James W. O., Garton N., 1952, The use of sodium diethyldithiocarbamate as a respiratory inhibitor, J. exp. Bot. 3: 310.

James W. O., 1953, The terminal oxidases of plant respiration, Biol. Rev. 28: 254.

James W. O., 1953, The use of respiratory inhibitors. Ann. Rev. Plant Physiol. 4: 59.

James W. O., 1954, Reaction path in plant respiration, Endeavour 13: 155.

James W. O., 1957, Reaction path in the respiration of the higher plants, Advanc. Enzymol. 18: 281.

James W. O. Das V. S. R., 1957, The organization of respiration in chlorophyllous cells, New Phytol. 56: 325.

James W. O., Lundegårdh H., 1959, The cytochrome system of young barley roots. Proc. Roy. Soc. Ser. B. 150: 7.

Krebs H. A., 1935, Metabolism of aminoacids. III. Deamination of aminoacids. Biochem. J. 29: 1620.

Laties G. G., 1954, The osmotic inactivation in situ of plant mitochondrial enzymes, J. exp. Bot. 5: 49.

Laties G. G., 1959, The nature of the respiratory rise in slices of chicory roots, Arch. Biochem. Biophys., 79: 364

Laties G. G., 1959, The development and control of coexisting respiratory systems in slices of chicory root, Arch. Biochem. Biophys. 79: 378.

Lieberman M., Biale J., 1955, Effectiveness of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in the activation of oxidations mediated by mitochondria from broccoli buds, Plant Physiol. 30: 549.

Lieberman M., 1958, Isolation of cytoplasmic particles with cytochrome oxidase activity from apples, Science 127: 189.

Loo S. W., Lie S. H., 1957, Tyrosinase in plant tissues cultures, Acta Bot. Sinica, 6: 281 (cyt. za Gautheret'em, 1959).

Lundegårdh H., 1954, Anion respiration. The experimental basis of the theory of absorption, transport and exudation of electrolytes by living cells and tissues, Symposia Soc. exp. Biol. VIII.

Mapson L. W., 1958, Metabolism of ascorbic acid in plants. Part I. Function, Ann. Rev. Plant Physiol. 9: 119.

Millerd A., Bonner J., 1953. The biology of plant mitochondria, J. Histochem. Cytochem. I: 254.

Morel G., Démétriadès S., 1955, Action de régulateurs de croissance sur l'activité oxydasique des tissus de Topinambur, Ann. Biol. 31: 227.

Nelson J. M., Dawson C. R., 1944, Tyrosinase, Advanc. Enzymol., 4: 99.

Pierpoint W. S., 1959, Mitochondrial preparations from leaves of tobacco (Nicotiana tabacum), Biochem. J. 71: 518.

Rubin B. A., 1955, O prisposobitielnom charaktierie dychanija rastienij, Izw. Akad. Nauk SSSR ser. Biol. 1955: 63.

Rubin B. A., Černavina I. A., Micheeva A. V., 1955, Wlijanije swieta na aktivnost' citochromoksidazy, DAN SSSR 105: 1039.

Sisakjan N. M., Bekina R. M., Mosolova I. M., 1957, O cykłoforaznoj aktiwnosti strukturnych elemientov rastitielnoj kletki, DAN SSSR 112: 981.

Smillie R., 1955, Mitochondria in green leaves, Aust. J. Sci. 17: 217.

Smillie R., 1956, Enzymic activities of subcellular particles from leaves. I. The occurence of mitochondria in green leaves of the pea plant, Aust. J. Biol. Sci 9: 81.

Smith L., Chance B., 1958, Cytochromes in plants, Ann. Rev. Plant Physiol. 9: 449.

Thimann K. V., Yocum C. S., Hackett D. P., 1954, Terminal oxidases and growth in plant tissues. III. Terminal oxidation in potato tuber tissue, Arch. Bioch. Biophys. 53: 239.

Vager R. M., 1955, Izmienienije aktiwnosti dychatielnych fiermientow rastienij pri wirusnoj infiekcji. Ž. Obš. Biol. 16: 298.

Weinstein L., Robbins W. R., 1955, Effect of light on the catalase and cytochrome oxidase activities of leaf tissues of green and albino sunflower plants, Contr. Thompson Inst. 18: 225.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Oksydazy końcowe tkanek roślinnych hodowanych in vitro. Cz. II. DPNH-cytochromo c reduktaza, bursztyno-cytochromo c reduktaza i oksydaza cytochromu c we frakcjach cząstkowych tkanek

Terminal oxidases in plant tissues cultivated in vitro.
II. DPNH-cytochrome c reductase, succino-cytochrome c reductase and cytochrome c oxidase in particulate fractions of the tissues.

JADWIGA MICHEJDA, JAN MICHEJDA

WSTĘP

W kontynuacji badań nad oksydazami końcowymi kilku tkanek roślinnych hodowanych *in vitro* (Michejda 1960) przebadano aktywność enzymów układu cytochromowego w preparatach frakcji cząstkowych tych tkanek, a mianowicie — oksydazy cytochromowej i reduktaz DPNH- i bursztynowej cytochromu c. Porównano aktywność poszczególnych enzymów w czterech rodzajach tkanek oraz ustalono proporcje ich aktywności w obrębie każdej z tych tkanek.

Skróty stosowane w pracy:

Dc — tkanka *Daucus carota*
Pt — tkanka *Parthenocissus tricuspidata*
Sh — tkanka *Scorzonera hispanica*
Om — tkanka *Opuntia monacantha*
DPN — nukleotyd dwufosfopirydynowy
DPNH — nukleotyd dwufosfopirydynowy zredukowany
osmM — osmo-mole.

MATERIAŁ I METODY

Tkanki

Do doświadczeń użyto następujących tkanek roślinnych hodowanych *in vitro* (G a u t h e r e t 1954):

Gatunek	Typ tkanki
1. *Daucus carota*	anergizowana
2. *Parthenocissus tricuspidata*	„
3. *Scorzonera hispanica*	Crown-Gall
4. *Opuntia monacantha*	„ „

Tkanki hodowano w temperaturze 24°C na stałym świetle sztucznym (lampy jarzeniowe, intensywność oświetlenia — 600 lux), w probówkach 23×120 mm, zawierających po 12,5 ml pożywki. Skład pożywki dla wszystkich tkanek był jednakowy: pożywka mineralna wg H e l l e r a (1952), sacharoza 2%, agar 0,6%.

Doświadczenia przeprowadzano w miesiącach od kwietnia do lipca na tkankach rosnących 6—7 lub 9—10 tygodni od przeszczepienia. Preparowanie frakcji cząstkowych oraz oznaczenia białka w tych frakcjach dokonywano w sposób opisany w części I (M i c h e j d a 1960).

Spektrofotometryczne pomiary aktywności enzymów

Pomiarów dokonywano przy pomocy spektrofotometru Hilgera H-700 używając kiuwet szklanych o długości drogi światła 1 cm. Całkowita objętość płynu w kiuwecie wynosiła 1 ml. Stosowano specjalny system przesłon zmniejszający wysokość szczeliny wyjściowej spektrofotometru. Temperatura pomieszczenia pomiarowego utrzymywana była na stałym poziomie 24 lub 27°C.

O k s y d a z ę c y t o c h r o m o w ą oznaczano wg systemu L. S m i t h (1955) mierząc spadek ekstynkcji przy 550 mμ. Kiuwety pomiarowe zawierały w stężeniach końcowych:

bufor fosforanowy wg Sörensena pH 7,0	0,025 M
cytochrom c zredukowany	$2{,}6\times10^{-5}$M
KCl zmienne ilości, najczęściej	0,015 M

W kiuwecie kontrolnej opuszczano zredukowany cytochrom c.

DPNH-r e d u k t a z a c y t o c h r o m u c. Redukcję cytochromu c przez DPNH mierzono przy 550 mμ.

Skład kiuwet pomiarowych w stężeniach końcowych był następujący:

bufor fosforanowy wg Sörensena pH 7,0	0,025 M
KPNH	10^{-4}M*
cytochrom c utleniony	$2,6 \times 10^{-5}$M
KCN	10^{-3} M
KCl zmienne ilości, najczęściej	0,01 M

W kiuwecie kontrolnej opuszczano jedynie cytochrom c.

Bursztyno-reduktaza cytochromu c. Redukcję cytochromu c przez bursztynian mierzono również przy 550 mμ. Stężenie końcowe w kiuwetach pomiarowych wynosiło:

bufor fosforanowy wg Sörensena pH 7,0	0,025 M
bursztynian sodu	0,01 M
cytochrom c utleniony	$2,6 \times 10^{-5}$M
KCN	10^{-3} M
KCL nie dodawano	

W kiuwecie kontrolnej opuszczano jedynie utleniony cytochrom c.

We wszystkich przypadkach końcowej redukcji cytochromu w kiuwecie pomiarowej dokonywano przez dodanie $Na_2S_2O_4$ w substancji. Odczynniki podawane były do kiuwet zawsze przynajmniej 10 minut przed pomiarem i umieszczane w kabinie pomiarowej dla wyrównania termicznego. Po kilku pomiarach wstępnych, mających ustalić aktualny poziom cytochromu c, wprowadzano preparat, najczęściej w ilości 10 μl, mikropipetką przewężaną (co odpowiadało przeciętnie 10—20 μg białka).

Zmiany ekstynkcji mierzono co 10 sekund w przypadku oksydazy cytochromowej, a co 15 sekund w przypadku obu reduktaz. Z reguły odczytywano równocześnie 2 kiuwety pomiarowe wobec jednej kontrolnej. Reproduktywność wyników w obu kiuwetach była bardzo duża.

Odczyty kontynuowano przez 3—5 min. od momentu dodania preparatu, czasami przedłużając ten okres do kilkunastu minut dla ustalenia punktu równowagi między oksydazą i reduktazą cytochromu c. Aktywność enzymatyczną preparatów obliczano jako $\mu M \times 10^{-2}$ cyt. c utlenionego lub zredukowanego /2 min./ mg białka preparatu. Podstawą kalkulacji były odczyty ekstynkcji od 30 sekundy do 2 minuty pomiaru. Nawet przy stosowaniu bardzo aktywnych preparatów, dających różnice ekstynkcji ok. 0,100/min., odcinek ten był liniowy dla oksydazy cytochromowej, a więc tym bardziej dla reduktaz. Jako współczynniki molowej ekstynkcji przyjęto (Umbreit, Burris, Stauffer 1957): $\alpha\ cyt_{red}$ — $0,281 \times 10^2$ cm²/μM $\alpha\ cyt_{ox}$ — $0,090 \times 10^2$ cm²/μM.

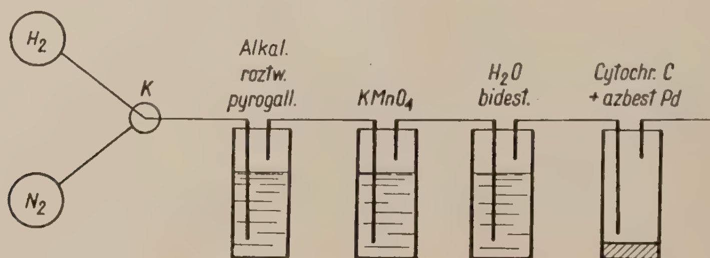
* DPNH rozpuszczony w roztworze buforowym podwyższał wartość osmotyczną płynu w kiuwecie pomiarowej o ok. 0,01 osmM.

Odczynniki

C y t o c h r o m preparowano wg K e i l i n a (1952) z serc wołowych dializując preparat wobec 0,5% NaCl. Cytochrom przechowywano z dodatkiem chloroformu w temperaturze 0°C. Każdorazowo przed pomiarami świeże porcje cytochromu uwalniano od chloroformu przez odparowanie w temperaturze pokojowej.

R e d u k c j ę c y t o c h r o m u c przeprowadzano wobec azbestu palladowego, systemem opisanym przez N i e l s e n a i L e h n i n g e r a (1955). Wobec małego rozpowszechnienia tej metody, przy równoczesnych trudnościach w uzyskaniu daleko posuniętej redukcji wg znanej metody L. Smith, podajemy poniżej dokładny przepis redukcji:

Wyjściowy roztwór cytochromu o stężeniu 5×10^{-4} M, po usunięciu chloroformu doprowadza się do pH 7,4 przy użyciu NaOH 1 N pod kontrolą elektrody szklanej. Cytochrom ten rozcieńcza się do stęż. około 4×10^{-4} M wodą bidestylowaną i umieszcza w płuczce gazowej razem z 10% azbestem palladowym. Azbest palladowy kupny lub po preparacji należy dokładnie przemyć gorącą destylowaną wodą. Wylot rurki dla gazu w płuczce z cytochromem powinien znajdować się kilka mm nad poziomem płynu, a grubość warstwy tego płynu nie powinna przekraczać kilku mm. Płuczka z cytochromem zostaje dołączona do systemu doprowadzającego gaz wg poniższego schematu:



Ryc. 1. Schemat zestawu do redukcji cytochromu c
The scheme of the set for cytochrome c reduction

Przed dołączeniem płuczki z cytochromem należy usunąć z układu tlen przez kolejne przepuszczenie przez niego najpierw wodoru przez 30 sekund, potem azotu przez 3 minuty. Następnie podłącza się płuczkę z cytochromem i przepuszcza azot przez 15 minut, potem wodór przez 45 minut. Barwa cytochromu zmienia się po ok. 20 minutach w wiśniową. Z kolei przepuszcza się przez najwyżej 5—10 minut azot dla usunię-

cia resztek wodoru, który mógłby wytworzyć później H_2O_2. Przez cały czas redukcji co kilka minut mieszamy bardzo ostrożnie roztwór cytochromu dla ułatwienia wymiany gazowej, unikając jednakże wytwarzania piany, która sprzyja denaturacji cytochromu i przechodzeniu jego w formę samoutlenialną. Następnie jak najszybciej przelewamy roztwór cytochromu na mały sączek piankowy G3 lub G4 i sączymy pod próżnią cytochrom do małych pojemników szklanych ze szlifem uszczelnianym smarem silikonowym. W pojemnikach tych należy zostawić jak najmniej fazy gazowej, którą należy po każdorazowym otwarciu naczynia uzupełnić azotem.

W powyższy sposób uzyskany cytochrom jest zredukowany w około 90—95% wykazując wskaźnik $\frac{E_{550}}{E_{565}} = 12 - 14$.

Ponieważ do pomiarów aktywności oksydazy cytochromowej wystarcza już wskaźnik 6, ten sposób redukcji należy uznać za bardzo korzystny. Samoutlenialność takiego cytochromu w kiuwetach pomiarowych jest znikoma i nie przekracza spadku ekstynkcji 0,001/min. przy użyciu stężenia cytochromu $2{,}6 \times 10^{-5}$ M. Użyteczna trwałość zredukowanego cytochromu przechowywanego w temp. — 10°C sięga jednak tylko 30 godzin, po których wskaźnik $\frac{E_{550}}{E_{565}}$ spada poniżej 6. Jako utlenionego cytochromu używano podobnie jak Shappirio i Williams (1957) normalny preparat cytochromu po doprowadzeniu do pH 7,4 nie używając polecanego przez Nielsena i Lehningera uprzedniego zakwaszania i wysycania powietrzem. Cytochrom taki wykazywał ponad 90% formy utlenionej.

DPNH uzyskiwano przez enzymatyczną redukcję DPN przy użyciu dehydrogenazy alkoholowej i etanolu.

Wszystkie używane odczynniki pochodziły z F-my Sigma i Fluka. Używano wyłącznie wody podwójnie destylowanej ze szklanego aparatu.

WYNIKI DOŚWIADCZALNE

Preparaty frakcji cząstkowych

Przy preparowaniu frakcji cząstkowych tkanek uzyskiwano osady w dolnych warstwach zielonkawe (ok. 1/10 obj. osadu), w górnych bezbarwne. Zielone zabarwienie posiadały również warstwy osadów po pierwszym wirowaniu (1000 x g).

Preparaty oglądane pod mikroskopem były jednorodne i zawierały cząstki kształtu sferycznego, wielkości rzędu 0,5 — 1,5 μ. Według definicji podanej przez Hacketta (1955) cząstki takie można uważać za mito-

chondria i w dalszym ciągu pracy używać będziemy terminu: preparaty mitochondrialne. Mitochondria stanowić musiały główny składnik tych preparatów, jakkolwiek częściowe zielonkawe zabarwienie wskazywało

Tabela 1 — Table 1

Wydajność frakcji mitochondrialnych poszczególnych tkanek wyrażona w mg białka preparatu na 1 g świeżej masy tkanki

The yield of mitochondrial protein (in mg) from 1 g wet weight of the tissue

Tkanka: Tissue:	*Opuntia monacantha*	*Parthenocissus tricuspidata*	*Scorzonera hispanica*	*Daucus carota*
Preparat I	0,32	0,26	0,60	0,41
Preparat II	0,32		0,50	0,49
Średnia Average	0,32		0,55	0,45

na zawartość w nich również fragmentów chloroplastów. Wydajność frakcji mitochondrialnych poszczególnych tkanek przedstawia tabela 1.

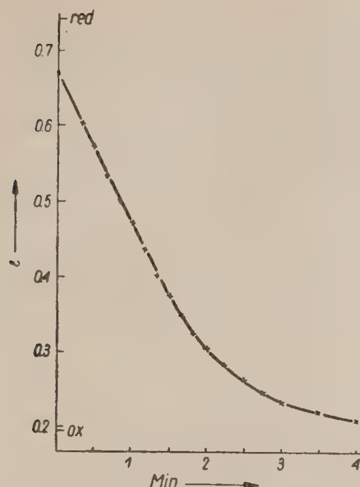
Własności enzymów

Oksydaza cytochromowa w badanych tkankach wykazuje aktywność wyrażającą się wartościami od 25 do 130 μM $\times$ 10^{-2} cyt. c utlen./ 2 min/mg białka preparatu. Oksydaza ta jest we wszystkich preparatach hamowana w 97—100% przez KCN 10^{-3} M. Przebieg reakcji jest początkowo liniowy (do ok. 2/3 utlenienia cytochromu), a następnie hyperboliczny i doprowadza do całkowitego utlenienia cytochromu (ryc. 2).

Zwiększenie wartości osmotycznej w kiuwecie pomiarowej o 0,16 osmM przez dodanie odpowiedniej ilości sacharozy hamuje aktywność oksydazy w tkance *Sh* o ok. 65%.

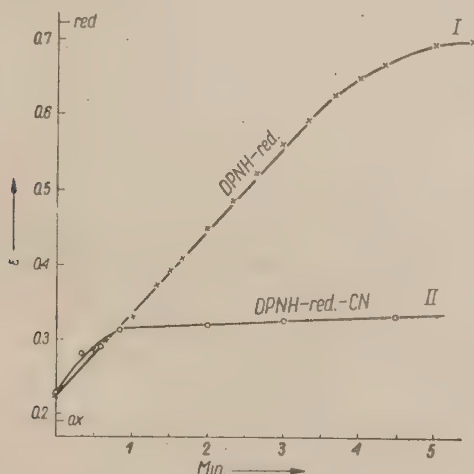
Systematycznych badań nad trwałością enzymu w czasie nie prowadzono, natomiast sporadyczne pomiary aktywności preparatów przechowywanych w 0°C do 24 godzin wykazały znaczną aktywację oksydazy na odcinku 1—5 godzin od czasu zrobienia preparatu, sięgającą 15—30% wartości początkowej dla różnych preparatów *Dc* i *Sh*. Po 20 godzinach aktywność stale jeszcze wynosiła ponad 60% aktywności maksymalnej.

DPNH — reduktaza i bursztyno-reduktaza cytochromu c. Reakcje redukcji cytochromu c przebiegają prawie do końca



Ryc. 2. Kinetyka reakcji oksydazy cytochromowej preparatu mitochondrialnego tkanki *Scorzonera hispanica.* Ilość preparatu odpowiada 20 µg białka

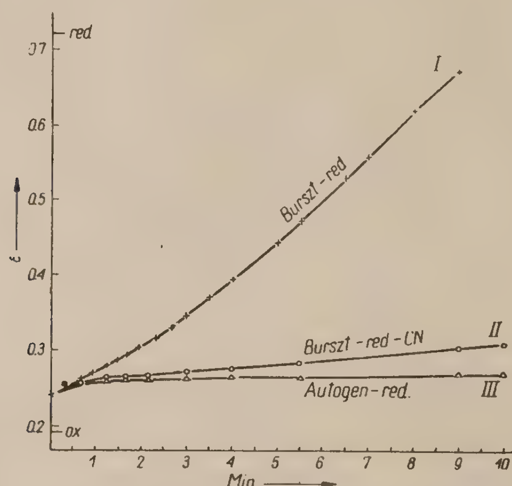
The kinetics of cytochrome c oxidase reaction in mitochondrial preparation from *Scorzonera hispanica* tissue. The quantity of preparation is equivalent with 20 µg of protein



Ryc. 3. Kinetyka reakcji DPNH-cytochromo c reduktazy preperatu mitochondrialnego tkanki *Scorzonera hispanica: I* — z dodatkiem KCN w kiuwecie pomiarowej; *II* — bez KCN. Ilość preparatu odpowiada 20 µg białka

The kinetics of DPNH-cytochrome c reductase in mitrochondrial preparation from *Scorzonera hispanica* tissue: *I* — with KCN added; *II* — without KCN. The quantity of preparation is equivalent with 20 µg of protein

liniowo (ryc. 3 i 4) doprowadzając do ok. 95% redukcji cytochromu. Opuszczenie KCN przy pomiarze DPNH-reduktazy prowadzi do ustalenia się po kilku minutach równowagi między działaniem tego enzymu



Ryc. 4. Kinetyka reakcji bursztyno-cytochromo c reduktazy preparatu mitochondrialnego tkanki *Scorzonera hispanica: I* — z dodatkiem KCN w kiuwecie pomiarowej; *II* — bez KCN; *III* — reakcja reduktazy cytochromu c bez dodatku substratu. Ilość preparatu odpowiada 40 μg białka

The kinetics of succino-cytochrome c reductase in mitochondrial preparation from *Scorzonera hispanica* tissue: *I* — with KCN added; *II* — without KCN; *III* — autogene reduction of cytochrome c. The quantity of preparation is equivalent with 40 μg of protein

i oksydazy cytochromowej. Poziom tej równowagi orientuje w proporcji aktywności obu enzymów i jest zazwyczaj zgodny z pomiarami aktywności tych enzymów oznaczanych oddzielnie.

Reduktaza bursztynowa cytochromu c wykazuje w pewnych przypadkach (*Dc, Sh*) po kilku minutach aktywację sięgającą 50—100% wartości początkowej (ryc. 4).

Reduktaza cytochromu c bez podanego substratu (ryc. 4) wykazuje aktywność bardzo małą, poniżej 0,5 μM $\times 10^{-2}$ cyt. c/2 min/mg białka, przeważnie wynosi 0, nie było więc konieczności korygowania o tę wartość aktywności obu reduktaz.

Zgodność pomiarów 2 równoległych prób wszystkich enzymów była całkowita. Również dwukrotne rozcieńczenie preparatu dało w efekcie zupełną zgodność pomiarów aktywności oksydazy cytochromowej wykonanych w odstępie 5 minut.

Porównanie aktywności enzymów w różnych tkankach

Tabela 2 przedstawia wyniki z dwóch niezależnych doświadczeń przeprowadzonych na tkankach 6—7-tygodniowych, hodowanych w czerwcu i lipcu. Temperatura przy pomiarach spektrofotometrycznych wynosiła 27°C. Z uwagi na wspomniany już silny wpływ wartości osmotycznej w kiuwecie pomiarowej na aktywność oksydazy cytochromowej (znany skądinąd również dla DPNH-reduktazy cyt. c. (Kasprzakowa i in. 1960)), w doświadczeniach tych zachowano jednakową wartość osmotyczną przy pomiarach wszystkich enzymów przez dodanie KCl dla oksydazy

Tabela 2 — Table 2

Aktywności enzymów oddechowych w preparatach mitochondrialnych tkanek 6—7 tygodniowych, wyrażone w $\mu M \times 10^{-2}$ cyt. c utlenionego lub zredukowanego /2 min/ mg białka preparatu

Aktywność oksydazy cytochromowej oznaczona dla wszystkich preparatów dwukrotnie w czasie 40—60 minut od chwili przygotowania preparatu, DPNH-cytochromo c reduktazy w czasie 60—90 min., bursztyno-cytochromo c reduktazy w czasie 90—140 min. Skład kiuwet standardowy.

Przy pomiarach DPNH-cyt. c reduktazy i oksydazy cytochromowej dodano KCl dla uzyskania izotonii z roztworem przy pomiarze bursztyno-cytochromo c reduktazy. Wyniki z dwóch niezależnych eksperymentów

The activity of respiratory enzymes in mitochondrial preparations from tissues 6—7 weeks of age (since the last transfer). The activity expressed in $\mu M \times 10^{-2}$ of the reduced or oxidised cytochrome c in 2 minutes by 1 mg of the mitochondrial protein

The activity has been estimated in following time after preparations completed: cytochrome c oxidase 40—60 min, DPNH-cyt. c red. 60—90 min, succino-cyt. c red. 90—140 min. Temp. 27°C. To reach the osmotic value of the succino-cytochrome c reductase medium, KCl was added to the other media

Tkanka Tissue	g Wyjściowa ilość tkanki Starting amount of tissue g.	Końcowa objętość preparatu ml Final volume of mitochondrial preparation ml	g tkanki w 1 ml preparatu Tissue in g per 1 ml of preparation	mg białka w 1 ml preparatu Protein in mg per 1 ml of preparation	Oksydaza cyt. c Cyt. c oxidase	DPNH-cyt. c red. DPNH-cyt. c red.	Burszt.-cyt. c red. Succ.-cyt. c red.
Opuntia monacantha	7	1,5	4,67	1,50	28,7	38,0	5,3
	7	1,5	4,67	1,50	21,6	32,6	4,7
Scorzonera hispanica	7	1,7	4,11	2,35	70,8	24,2	21,2
	7	3,5	2,00	1,00	113,0	30,0	35,0
Parthenocissus tricuspidata	5,5	1,0	5,50	1,45	60,0	73,9	9,0
Daucus carota	7	1,8	3,9	1,60	52,3	71,8	15,6
	5,5	1,5	3,8	1,80	70,0	82,2	10,5

cytochromowej i DPNH-reduktazy do wyrównania z wartością osmotyczną w kiuwetach dla bursztyno-reduktazy cyt. c (0,13 osmM).

Z tabel 2 i 3 (którą sporządzono dla przejrzystszego przedstawienia wyników zebranych w tabeli 2) wyprowadzić można ogólną charakterystykę badanych tkanek pod względem aktywności omawianych enzymów. Tkanki *Pt* i *Dc* wykazują bardzo zbliżony układ aktywności enzymów. Ich wspólną cechą jest wysoka aktywność DPNH-reduktazy cyt. c, nieco niższa od niej aktywność oksydazy oraz niska aktywność bursztyno-reduktazy cyt. c. Równowaga między oksydazą i DPNH-reduktazą ustala się w kiuwetach pomiarowych bez dodatku KCN już po 4 minutach, na poziomie ok. 50% zredukowanego cytochromu. Pozostaje to w przybliżeniu w zgodności ze stosunkiem aktywności oksydazy i DPNH-reduktazy w tych tkankach.

Tabela 3 — Table 3

Przeciętne wartości aktywności enzymów oddechowych w preparatach mitochondrialnych z 6—7 tygodniowych tkanek, wyrażone w $\mu M \times 10^{-2}$ cyt. c /2 min/ mg białka

The average activity of respiratory enzymes of mitochondrial preparations from several tissues 6—7 weeks of age (since the last transfer). Activity expressed in $\mu M \times 10^{-2}$ cyt. c reduced or oxidised in 2 min by 1 mg of mitochondrial protein

Tkanka Tissue	Oksydaza cyt. c Cytochrome c oxidase	DPNH-cyt. c reduktaza DPNH-cyt. c reductase	Bursztyno-cyt. c reduktaza Succino-cyt. c reductase	DPNH-cyt. c reduktaza — KCN: równowaga red/ox cyt. c (% zred. cyt. c) steady state of cyt. c ox/red (in % of reduced cyt. c)	DPNH-cyt. c reduktaza — KCN: po czasie min after the time in minutes
Opuntia monacantha	25	35	5	70	12
Scorzonera hispanica	92	27	28	20	15
Parthenocissus tricuspidata	60	74	9	43	4
Daucus carota	61	75	13	50	4

Odrębny typ przedstawia tkanka *Sh*, w której aktywność oksydazy cytochromowej, najsilniejsza ze wszystkich badanych tkanek, 3,5 razy przewyższa aktywność DPNH-reduktazy, która w tej tkance jest wyjątkowo słaba. Natomiast reduktaza bursztynowa cyt. c jest tu 2—4 razy silniejsza niż w pozostałych tkankach i dorównuje aktywności DPNH-

Tabela 4 — Table 4

Proporcje pomiędzy aktywnościami enzymów oddechowych. Wartości wyrażające aktywność DPNH-cytochromo c reduktazy przyjęto dla każdej tkanki za jednostkę

Proportional activity of respiratory enzymes in tissues 6—7 weeks of age (since the last transfer). The DPNH-cyt. c reductase activity taken as the unit

Tkanka Tissue	Oksydaza cytochromowa Cytochrome c oxidase	DPNH-cyt. c reduktaza DPNH-cyt. c reductase	Bursztyno-cyt. c reduktaza succino-cyt. c reductase
Opuntia monacantha	0,7	1	0,14
Scorzonera hispanica	3,4	1	1
Parthenocissus tricuspidata	0,8	1	0,12
Daucus carota	0,8	1	0,17

Tabela 5 — Table 5

Aktywność enzymów: oksydazy cytochromowej, DPNH-cytochromo c reduktazy i bursztyno-cytochromo c reduktazy wyrażona w $\mu M \times 10^{-2}$ cyt. c /2 min/ mg białka. Tkanki liczące 9—10 tygodni od daty przeszczepienia. Stężenia w kiuwetach pomiarowych: dla oksydazy 0,15 osmM, dla DPNH-reduktazy 0,19 *osm*M, dla bursztyno-reduktazy 0,13 *osm*M

The activity of respiratory enzymes in mitochondrial preparations from tissues 9—10 weeks of age (since the last transfer). The activity expressed in $\mu M \times 10^{-2}$ cyt. c /2 min/ mg of mitochondrial protein. The osmolar concentration in reaction medium: cyt. c oxidase — 0,15 *osm*M, DPNH-cyt. c reductase — 0,19 *osm*M, succino-cyt. c reductase 0,13 *osm*M

Tkanka Tissue	Wyjściowa ilość tkanki g Starting amount of tissue g	Końcowa objętość preparatu ml Final volume of preparation ml	mg białka w 1 ml prepar. Protein in mg per 1 ml of preparation	Oksydaza cyt. c Cytochrome c oxidase	DPNH-cyt. c redukt. DPNH-cyt. c reduct.	Burszt.-cyt. c redukt. Succino-cyt. c reduct.
Opuntia monacantha	6	0,8	1,30	23,2	30,0	8,8
Scorzonera hispanica	6	0,8	2,5	53,6	35,6	18,4
	6	0,8	1,94	58,4	37,3	20,6
Parthenocissus tricuspidata	6	0,8	0,61	64,3	88,4	13,2
Daucus carota	6	0,8	2,2	58,0	78,0	9,5

reduktazy cyt. c. Wybitna przewaga aktywności oksydazy cytochromowej w preparacie z tkanki *Sh* znajduje odbicie w bardzo silnym zahamowaniu aktywności DPNH-red. wobec braku cyjanku w kiuwecie pomiarowej. Równowaga red-ox cytochromu c ustala się w tych warunkach 4 razy później niż w przypadku tkanek *Dc* i *Pt* i to na poziomie tylko 20% zredukowanego cyt. c. Tkanka *Om* wykazuje najsłabszą spośród badanych tkanek aktywność enzymów, przy czym najsilniejsza jest DPNH-reduktaza cytochromu c. Znajduje to swoje odbicie w ustaleniu się równowagi między oksydazą i DPNH-reduktazą po 12 minutach na poziomie 70% zredukowanego cytochromu. Proporcje badanych enzymów w poszczególnych tkankach uwidacznia tabela 4. Wynika z niej duża zgodność proporcji aktywności badanych enzymów w tkankach *Pt* i *Dc*. Zarazem uwidacznia się ta sama proporcja dla tkanki *Om*, tak że różnicą między *Om* a *Pt* i *Dc* jest ogólnie niższą aktywność enzymów tej tkanki. W tkance *Sh* proporcje między enzymami są wybitnie różne.

Tabela 6 — Table 6

Przybliżone proporcje pomiędzy aktywnościami enzymów: oksydazy cyt., DPNH-cytochromo c reduktazy i bursztyno-cytochromo c reduktazy w tkankach 9—10 tygodniowych, obliczone na podstawie danych z tabeli 5. Wartości dla DPNH-cyt. c reduktazy przyjęto dla każdej tkanki za jednostkę

Proportional activity of respiratory enzymes in preparations from tissues 9—10 weeks of age, calculated with DPNH-cyt. c reductase activity as a unit

Tkanka Tissue	Oksydaza cytochromu c Cytochrome c oxidase	DPNH-cytochromo c reduktaza DPNH-cytochrome c reductase	Bursztyno-cytochromo c reduktaza Succino-cytochrome c reductase
Opuntia monacantha	0,8	1	0,3
Scorzonera hispanica	1,6	1	0,6
Parthenocissus tricuspidata	0,7	1	0,1
Daucus carota	0,7	1	0,1

Dla porównania z opisanymi doświadczeniami przytaczamy poniżej (tabela 5 i 6) wyniki wcześniejsze, uzyskane na tkankach liczących 9—10 tygodni i mających około 2 razy większą masę oraz przy nieco innym stężeniu ostatecznym w kiuwetach pomiarowych, a mianowicie:

dla oksydazy cytochrom. 0,15 osmM zamiast 0,13
dla DPNH-red. cytochrom. 0,19 osmM zamiast 0,13
dla bursztyno-red. cytochrom. 0,13

Tabela 6 podaje przybliżone proporcje pomiędzy aktywnościami poszczególnych enzymów przy przyjęciu wartości DPNH-red. za jednostkę dla każdej tkanki.

Z tabel 5 i 6 wynika znaczna zgodność — zarówno bezwzględnych, jak i względnych wartości aktywności poszczególnych enzymów — z wynikami serii głównej (tab. 2—4) dotyczącymi tkanek *Pt, Dc* i *Om*.

Tkanka *Sh* natomiast charakteryzuje się znacznym spadkiem aktywności oksydazy cytochromowej, przy równoczesnym wzroście aktywności DPNH-cytochromo c reduktazy. Różnica w wartościach osmotycznych przy pomiarach oksydazy i DPNH-reduktazy cytochromu c, w stosunku do doświadczeń zebranych w tabelach 2—4, idzie w kierunku zwiększenia aktywności oksydazy cytochromowej. Tak więc przesunięcie proporcji aktywności tych enzymów w tkance *Sh* istotnie zachodzi.

DYSKUSJA

Preparaty frakcji cząstkowych (mitochondrialnych) wszystkich badanych tkanek wykazują zdolność zarówno utleniania, jak i redukcji cytochromu c przy użyciu takich substratów, jak bursztynian i DPNH, co wskazuje na obecność w tych tkankach cytochromowego układu oddechowego. Z wykresów (ryc. 2—4) ilustrujących przykładowo dla tkanki *Sh* przebieg redukcji i utlenienia cytochromu c (dla pozostałych tkanek wykresy te przedstawiają się podobnie) wynika, że reakcja oksydazy cytochromowej jest w znacznej części swego przebiegu reakcją I rzędu, co zgadza się ze znanymi własnościami tego enzymu (Smith, Conrad 1956). Cyjanek w stężeniu 10^{-3} M hamuje reakcję w 97—100%.

Interesujące jest zachowanie się bursztyno-cytochromo c reduktazy w początkowym okresie przebiegu reakcji, wskazujące na jej stopniową aktywację. Zjawisko to obserwował również Hackett (1956) w preparatach mitochondrialnych tkanki bulwy ziemniaka, tłumacząc je powolnym przenikaniem bursztynianu przez błony mitochondrialne. Zjawisko to nie zachodzi w przypadku reakcji DPNH-cytochromo c reduktazy, której przebieg jest liniowy począwszy od 20 sekundy od chwili podania preparatu.

Brak autogennej redukcji cytochromu c wskazuje na dokładne usunięcie substratów w toku preparacji frakcji cząstkowych. Pomimo, że w składzie kiuwet pomiarowych specjalnie zadbano o identyczne stężenia przy pomiarach wszystkich trzech enzymów (przez dodawanie odpowiednich ilości KCl) — trudno jest wnioskować o takiej samej proporcji między badanymi enzymami w tkance in vivo, chociażby z uwagi na na

pewno niefizjologiczne stężenie cytochromu c i DPNH. Ustalenie tej równowagi było trudne nawet w warunkach pomiarów z uwagi na silną aktywację oksydazy cytochromowej w pierwszych godzinach po sporządzeniu preparatu, sięgającą 15—30% wartości początkowej. Dla uniknięcia różnic mogących wyniknąć z tej aktywacji, pomiary aktywności poszczególnych enzymów dla wszystkich tkanek przeprowadzono w określonych odstępach czasu od chwili zrobienia preparatu.

Przeprowadzając orientacyjne porównania otrzymanych wyników z danymi z prac innych autorów widzimy, że aktywność oksydazy cytochromowej w badanych tkankach jest od kilku do kilkunastu razy wyższa niż znaleziona przez Hacketta (1956) w mitochondriach ziemniaka. Jest ona natomiast niższa (gdy przeliczymy na µl O_2/godz/g św. masy tkanki) od znajdowanej w kiełkach pszenicy, jęczmienia i grochu przez Fritza i Beeversa (1955), gdzie sięga rzędu 1000 µl O_2/godz/g św. masy, czy przez Honda (1957) w korzeniach jęczmienia.

Co się tyczy proporcji między trzema badanymi enzymami należy stwierdzić, że stosunek oksydazy cyt. /DPNH-cyt. c. reduktazy jest z wyjątkiem tkanki *Sh* niski (poniżej 1) w porównaniu z mitochondriami ziemniaka (Hackett 1956) czy zarodków pszenicy (Johnston, Nasatir, Stern 1957), gdzie wynosi on 3,5—4. Stosunek DPNH-cyt. c reduktazy/ bursztyno-cyt. c reduktazy w badaniach tkankach jest natomiast wysoki i wynosi 6—7 (u ziemniaka 2) z wyjątkiem tkanki *Sh*, gdzie jest zbliżony do 1. Trzeba stwierdzić, że tkanka *Sh* znacznie odbiega pod względem proporcji enzymów od pozostałych, badanych tkanek. Tkanka *Om* charakteryzuje się ogólnie niskimi wartościami aktywności enzymów, co pokrywa się z jej stosunkowo niskim zapotrzebowaniem tlenowym (Michejda 1960).

Jeżeli porównamy aktywności oksydazy cytochromowej poszczególnych tkanek w przeliczeniu na µl O_2/godz/g św. masy tkanki z ich zapotrzebowaniem tlenowym (Michejda Cz. I, 1960), co przedstawia tabela 7, stwierdzamy pewien niedobór oksydazy.

Należy jednak wziąć pod uwagę, że niedobór oksydazy cytochromowej może być wywołany tym, że w czasie preparowania frakcja cząstkowa nie jest wyizolowywana w sposób ilościowy. Honda (1957) stwierdził na przykład znaczną aktywność oksydazy cytochromowej we frakcji błon komórkowych spowodowaną zanieczyszczeniami cząstkowymi.

Drugą przyczyną obniżenia aktywności oksydazy cytochromowej może być użyte stężenie cytochromu c, które wg Smith i Conrad (1956) hamuje aktywność oksydazy. Tak więc odpowiedź na pytanie, czy oksydaza cytochromowa jest jedyną oksydazą końcową czynną w procesie oddychania badanych tkanek — wymaga dalszych badań.

Tabela 7 — Table 7

Porównanie aktywności oksydazy cytochromowej, wyrażonej w µl O_2/godz/ilość preparatu mitoch. z 1 g św. masy tkanki, z zapotrzebowaniem tlenowym skrawków tkanek

Comparison of the cytochrome c oxidase activity expressed in µl O_2/hour/g fresh weight of the tissue with the oxygen uptake of the tissue slices

Tkanka Tissue	QO_2 µl O_2/godz./g św. masy tkanki (skrawki) QO_2 µl O_2/h/g of wet weight of the tissue slices	Aktywność oksydazy cytochromowej µl O_2/godz./g św. masy (Preparat mitochondr.) Cytochrome c oxidase µl O_2/h/g of wet weight (mitochondrial preparations)	% pokrycia zapotrzebowania tlenowego przez oksydazę cytochromową The % of total oxygen uptake of the tissue that can be accounted for by cytochrome c oxidase
Scorzonera hispanica	50	85	170
Daucus carota	50	46	92
Parthenocissus tricuspidata	35	26	74
Opuntia monacantha	20	13	65

Dalszego opracowania wymaga również obserwacja nad zmniejszeniem aktywności oksydazy cytochromowej w tkance *Sh* 10-tygodniowej w stosunku do 6-tygodniowej (od daty przeszczepienia) — w jakim stopniu jest to związane z wiekiem tkanki, a w jakim z prawdopodobnym niedoborem pożywki na skutek przerastania tkanki, która odznacza się w stosunku do pozostałych intensywnym wzrostem.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW

1. Preparaty frakcji cząstkowych (mitochondrialnych) uzyskane z kilku tkanek roślinnych hodowanych *in vitro* wykazują zdolność utleniania cytochromu c oraz jego redukcji przy użyciu DPNH i bursztynianu jako substratów.

2. Aktywność oksydazy cytochromowej w badanych tkankach wyraża się wartościami od 25—130 µM $\times 10^{-2}$ cyt. c/2 min/mg białka preparatu. Reakcja w warunkach pomiaru przebiega liniowo przez pierwsze 2 minuty. Aktywność oksydazy jest silnie zależna od wartości osmotycz-

nej. W okresie 1—5 godzin po zrobieniu preparatu następuje zwiększenie aktywności o 15—30% wartości początkowej.

3. Reakcje reduktaz cytochromu c przebiegają prawie do końca liniowo i doprowadzają do redukcji ok. 95% cytochromu.

Pominięcie KCN przy pomiarze DPNH-reduktazy cyt. c prowadzi do ustalenia się równowagi red/ox cytochromu c, której poziom odpowiada stosunkowi aktywności oksydazy i reduktazy cytochromu w danym preparacie mierzonych oddzielnie.

Bursztyno-cytochromo c reduktaza wykazuje w preparatach tkanek *Dc* i *Sh* po kilku minutach aktywację sięgającą 50—100% wartości początkowej.

Autogennej redukcji cytochromu c w badanych preparatach nie stwierdzono.

4. Spośród badanych tkanek *Pt* i *Dc* wykazują zbliżone wartości bezwzględne oraz proporcje pomiędzy aktywnościami poszczególnych enzymów. Tkanka *Sh* (6-tygodniowa) odznacza się wybitnie wysoką aktywnością oksydazy cytochromowej. Tkanka *Om* wykazuje najniższe aktywności wszystkich enzymów spośród badanych tkanek.

Katedra Fizjologii Roślin
i Zakład Fizjologii Zwierząt
Uniwersytetu im. A. Mickiewicza
w Poznaniu

(Wpłynęło dn. 30.5. 1960)

SUMMARY

Introduction

Continuing the researches on terminal oxidases in several plant tissues cultivated *in vitro* (Michejda 1960) — the spectrophotometric investigations of the enzymes connected with oxidation and reduction of cytochrome c in particulate fraction preparations of the tissues were carried on.

Material and methods

Four tissues were used for the investigations:

Species of tissue	Type of tissue
Daucus carota	anergized
Parthenocissus tricuspidata	anergized
Scorzonera hispanica	Crown-Gall
Opuntia monacantha	Crown-Gall

All the tissues were cultivated at 24°C, exposed to continuous fluorescent light (600 lux), on the Heller's mineral nutrient with the addition of 2% sucrose and 0,6% agar.

Particulate fraction preparations and the protein estimation in them were done according to the methods described in Part I. (Michejda 1960). Spectrophotometric measurements of the activity of cytochrome c oxidase, DPNH-cytochrome c reductase and succino-cytochrome c reductase were done using Hilger Spectrophotometer H-700, in 1 cm glass cuvettes, at 24° or 27°C. The total volume of the liquid in cuvettes was 1 ml. All enzymes were examined in 0,025 M phosphate buffer (Na/K), pH 7,0, and by the cytochrome c concentration (reduced or oxidized) $2,6 \times 10^{-5}$ M.

In DPNH-cyt. c reductase measurements DPNH in concentration 10^{-4} M and KCN 10^{-3} M were added. In case of succino-cyt. c reductase DPNH was replaced by sodium succinate in concentration of 0,01 M. To keep the isotonic concentration with succino-cyt. c reductase medium, KCl was added to other reaction media. In control cuvettes only cytochrome c was omitted. The total content of cytochrome c in cuvettes was estimated after measurements using $Na_2S_2O_4$ as reductor. The extinction changes were measured every 10 second in case of cytochrome c oxidase, and every 15 second in case of both reductases.

Enzyme activities were expressed in $\mu M \times 10^{-2}$ of the reduced or oxidized cytochrome c during 2 minutes by 1 mg of the particulate fraction protein. The values: $\alpha\ cyt_{ov} = 0,090 \times 10^2\ cm^2/\mu M$ $\alpha\ cyt_{red} = 0,281 \times \times 10^2\ cm^2/\mu M$ were assumed as molar extinction coefficients. Cytochrome c was prepared using Keilin's method (1952) and was used as the oxidized form. Cytochrome was reduced by Nielsen and Lehninger's method (1955) and the high reduction degree ($\frac{E_{550}}{E_{565}} = 12 - 14$) was achieved. We got the DPNH by the enzymatic reduction of DPN. Fluka and Sigma reagents and bidistillated water from glass apparatus were exclusively used.

Results and discussion

The yield of particulate fraction preparation expressed in mg of protein/ per 1 g of fresh tissue mass (Table 1) was very reproductible for separate tissues. The preparations contained spherical particles ranging from 0.5 — 1,5 μ. These particles may be regarded as mitochondria (Hackett 1955) so the term "mitochondrial preparations" is also used

in the present work. Concerning the kinetics of the reaction it has been found the cytochrome c oxidase reaction in the greater part of its course to be the first order's one, and leading to the complete oxidation of cytochrome. It was completely inhibited by KCN 10^{-3} M. Both reductases ran nearly to the end as the O-order reactions, causing the reduction of cytochrome in about 95%.

The omission of KCN during the determination of DPNH-cyt. c reductase inhibited the reaction and caused the stabilisation of red/ox cytochrome c on the level approximately concordant with the proportion of reductase and the oxidase of cytochrome. Succino-cytochrome c reductase in tissues of *Daucus* and *Scorzonera* shows the activation in several minutes after preparation completed. No autogene reduction of cytochrome was found in the preparations.

The cytochrome c oxidase activity largely depends on the osmotic value in cuvettes. It decreases by half at the concentration difference 0,16 osM. The observation upon the durability of this enzyme in preparations from *Daucus* and *Scorzonera* tissues showed strong activation of cytochrome oxidase 1—5 hours after making the preparation. This activation is probably caused by the mitochondrial changes in a slightly hypotonic medium. The general characteristic of the investigated tissues can be drawn from Table 3. The tissues of *Daucus* and *Parthenocissus* are very similar ones. They have rather high DPNH-cyt. c reductase and very low succino-cyt. c reductase activity. The balance between the oxidase and reductase is fixed on the level about 50% of the reduced cytochrome c when KCN is omitted. The absolute values for both tissues are also very similar.

Scorzonera tissue in which the cytochrome oxidase activity is 3 times higher than that of DPNH-cyt. c reductase, the latter being in this tissue exceptionaly low, represents a different type. Succino-cyt. c reductase is 2—4 times stronger than in other tissues and nearly equal to DPNH-cyt. c reductase. The prevalence of cytochrome c oxidase over DPNH-cyt. c reductase in *Scorzonera* tissue is visible in the strong inhibition of the latter when KCN is omitted. The balance in this case is reached more slowly, on the low level (20%) of reduced cytochrome. *Opuntia* tissue shows the lowest activity of all enzymes among the all investigated tissues, DPNH-cyt. c reductase being the strongest. In connection with it – the red/ox balance is fixed when KCN is omitted on the level of about 70% reduced cytochrome c. The proportions of the activities of enzymes (by taking DPNH-cyt. c. reductase activity in the given tissue as the unit) are shown in Table 4.

A similar comparison of the older tissues (Table 6) showed nearly the same enzyme proportions for all the tissues except *Scorzonera* in which

cytochrome c oxidase was only 1,6 times more active than DPNH-cyt. c reductase. It may be connected with the age of tissue, or with the deficiency of nutrient caused by its excessive growth.

Comparing our results with the data of other authors, one can see that cytochrome c oxidase activity is several, up to twenty times higher than in potato mitochondria (Hackett 1956), it is on the other hand lower than in wheat and barley seedlings (Fritz, Beevers 1955) or in barley roots. The ratio: cyt. c oxidase/DPNH-cyt. c. reductase is lover (except in *Scorzonera*) than in potato (Hackett 1956) or embryos (Fritz, Beevers 1955). The ratio: DPNH-cyt. c reductase/ succino-cyt. c reductase is higher than in potato mitochondria (except *Scorzonera* tissue).

The comparison of the cytochrome c oxidase activity expressed in µl O_2/h/g of fresh tissue mass with the oxygen uptake of the tissue slices (Michejda 1960) shows some deficiency (except *Scorzonera* tissue) of the cytochrome oxidase activity. It may be caused however by the inhibiting action of cytochrome c in concentration used (Smith, Conrad 1956) or by loss of mitochondrial fraction in the course of preparation, and it does not allow to draw a conclusion on the participation of other oxidases in respiration of investigated tissues.

LITERATURA

Fritz G., Beevers H., 1955, Cytochrome oxidase content and respiratory rates of etiolated wheat and barley seedlings Plant Physiol. 30: 309.

Gautheret R. J., 1954, Catalogue des cultures de tissus végétaux, Rev. Gén. Bot. 61: 672.

Gentile A. C., Naylor A. W., 1955, The metabolism of *Rumex* virus tumors. Terminal respiratory enzymes, Physiologia Plant. 8: 682.

Hackettt D. P., 1955, Recent studies on plant mitochondria, Int. Rev. Cytol. 4: 143.

Hackett D. P., 1956, Pathways of oxidations in cell free potato fractions, Plant Physiol. 31: 111.

Heller R., 1952 Recherches sur la nutrition minérale de tissus végétaux cultivés *in vitro*, Thèse, Paris, 223 pp.

Honda S. I., 1957, Some effects of ascorbic acid and metal complexing agents on the respiration of barley roots, Plant Physiol. 32: 23.

Johnston F. B., Nasatir M., Stern H., 1957, The isolation of nuclei and oxidative particles from viable wheat embryos, Plant Physiol. 32: 124.

Kasprzakowa L., Obuchowicz L., Michejda J., Ogórkiewicz T., 1960, Enzymatyka oddychania u *Helix pomatia* L. II. Parametry aktywności enzymów odechowych, PTPN, Prace Kom. Biol. (w druku).

Keilin D., Hartree E. F., 1952, Biochemical Preparations 2, 109 pp., New York, J. Wiley & Sons, Inc.

Michejda J., 1960, Oksydazy końcowe tkanek roślinnych hodowanych *in vitro.* Cz. I. Działanie inhibitorów oddechowych. Oksydazy miedziowe. Acta Soc. Bot. Pol. 29 (4): 673.

Nielsen S. O., Lehninger A. L., 1955, Phosphorylation complet to the oxidation of ferrocytochrome c., J. Biol. Chem. 215: 555.

Shappirio D. G., Williams C. M., 1957, The cytochrome system of the Cecropia silkworm. II. Spectrophotometric studies of oxidative enzyme systems in the wings epithelium, Proc. Roy. Soc. B. 147: 233.

Smith L., 1955, Cytochrome c oxidase, Methods in Enzymology II, Colowick S. P., Kaplan N. O. 987 pp., Acad. Press, New York.

Smith L., Conrad H. 1956, A study of the kinetics of the oxidation of cytochrome c by cytochrome c oxidase. Arch. Biochem. Biophys. 63: 403.

Stern H. Johnston F. B., 1957, A particulate piridine nucleotide oxidase system of the wheat embryo, Plant Physiol. 32: 476.

Umbreit W. W., Burris R. H. Stauffer I. F., 1957, Manometric techniques. 338 pp. Burgess Publishing Co. Minneapolis.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Investigation on the kind of *Larix polonica* Rac. wood formed under various photoperiodic conditions

I. Plants growing in natural conditions

T. WODZICKI

The paper reports the first part of investigations carried out in natural conditions and in greenhouse on the problem of wood formation, with respect to daily rhythm of light. The problem of influence of environmental factors on wood formation has been investigated by many authors but as yet papers dealing with the influence of daylength on cambial activity and wood formation are scanty. According to these works (Wareing 1951, Wareing, Roberts 1956), the activity of cambium in some woody species may be prolonged in the vegetation season by a long day regime and inhibited by short day conditions. New recent findings of Żelawski (1957) seem to show that daylength also influences the type of wood that is formed under various photoperiodic conditions. He showed that typical late wood elements were formed in larch seedlings when the plants were grown under short day conditions, while under continuous illumination (light intensity — 1300 lux during night hours) only thin walled tracheids occurred. This fact was subsequently demonstrated on spruce seedlings (Żelawski, Wodzicki 1960). It is well known that under short day conditions in many species of wody plants extension growth ceases and resting buds are formed (Wareing 1948, 1956, Nitsch 1957). This fact found also its confirmation in experiments with larch seedlings (Żelawski 1956). It was suggested earlier (Priestley, Scott 1936) that late wood formation is connected with cessation of extension growth in woody plants. Nevertheless it has been clearly shown by Molski and Żelawski (1958) that thick-walled tracheids were also formed during continuous growth of larch seedlings under uninterrupted illumination obtained by using additional low intensity (10 lux) light during night hours in greenhouse. Thus, it might be supposed that cell wall thickening (affected by light conditions) was not

directly connected with the photoperiodic reaction of the shoot apex and extension growth of the plant. The literature dealing with extension growth and wood formation relatioship in the light of studies on photoperiodic reaction of woody species is reviewed in detail in another paper (in press).

Early and late wood in conifers differs generally by radial diameter and cell wall thickness of tracheids. The present investigations were undertaken to examine the sequence of changes in wood structure during the vegetation season in larch seedlings growing in natural conditions. Changes of radial diameter and of cell wall thickness of tracheids were investigated and extension growth of shoots was observed.

MATERIAL AND METHODS

For the investigations in 1957, 3-years-old plants of *Larix decidua* Mill. were taken grown on an experimental plot near the Agricultural College S.G.G.W. in Warsaw. Plants were harvested at monthly intervals from May till November and twice in winter on December 23, 1957 and February 10, 1958. Each time 5 plants were taken for anatomical examination and about 5 cm pieces of the basal part of stems were fixed in 90 per cent ethyl alcohol. Transversal sections were cut with a sliding microtome, stained with safranin and light green and mounted in Canada balsam as permanent preparations. The method already described by Wight (1933) has later been used by Wareing.

For the investigations in 1958, 2-years-old plants of *Larix polonica* Rac. were used, grown in the nursey of S.G.G.W. Experimental Forests in Rogów *. Plants were harvested at 1 and 2 week intervals from August to December 1958 and once on January 24, 1959. Each time, for anatomical examination 20 plants were taken and placed in ethyl alcohol. The method of preparation was the same as in the previous year with *Larix decidua* plants, except that transversal sections from the basal part of stems were cut by hand.

Measurements of tracheids in each plant were carried out on two sections from the same basal level of the stem. Radial diameter (between two neighbouring tangential middle lamellae) and radial lumen were measured only in the tracheids lying along two lines perpendicular to each other and joinig the pith and cambial zone (thus the measured tracheids were situated along two perpendicular radiuses of the trans-

* Seeds for the plant material were collected from the same trees as these used later in greenhouse experiments.

versal section of the stem). The thickness of cell walls was calculated from these two values, therefore the cell wall thickness of tracheids is given as the thickness of two tangential cell walls of each of the measured tracheids.

The wood formation rate was determined by counting all the tracheids along the examined part of the radius from the cambial zone to late wood already formed in the previous year. Simultaneously with measurements of mature elements of wood, some observations of cells in the cambial zone were carried out which will be described later.

RESULTS

Larix decidua Mill.

114 tracheids were formed in the studied annual wood ring in radial direction during the vegetation season (Table 1). The minimal monthly increment of tracheids was 12 and maximal 28. Measurements of diameter and lumen of tracheids were carried out on the 10 last formed tracheids along each radius. This was done in order not to measure a second time the tracheids which were characteristic for the previous period. For determination of the size of early wood tracheids, in 3 samples 10 tracheids were measured formed as the first wood cells in spring (from late wood of previous year in radial direction). Late wood was characterized by measurements of the 10 last formed tracheids in 3 samples, after the cambial activity had ceased.

Table 1

Number of tracheids in radial direction in stems of European larch seedlings during the third vegetation season 1957 (Averages from 30 measurements)

Samples	Number of tracheids	Increment
May 2. 1957.	0	
		22
June 2. 1957.	22	
		18
July 2. 1957.	40	
		18
August 2. 1957.	58	
		12
September 2. 1957.	70	
		28
October 2. 1957.	98	
		16
November 4. 1957.	114	

From Table 2 it may be seen that the diameter of early wood tracheids was larger only at the beginning of the season and then gradually decreased. The diameter of tracheids of late wood decreased significantly at the very end of wood ring formation.

Table 2

European larch seedlings. Radial diameter of 10 successive tracheids of early and late wood in microns

Successive tracheids from previous year late wood	Early wood Samples I	II	III	Average	Successive tracheids from cambium	Late wood Samples I	II	III	Average
1	24.9	18.6	22.8	22.1	10	18.9	17.3	18.8	18.4
2	28.0	22.4	25.3	25.3	9	19.2	17.5	19.1	18.6
3	27.7	22.8	26.3	25.6	8	19.2	17.6	19.2	18.7
4	26.1	23.6	27.6	25.8	7	19.2	17.2	18.3	18.3
5	27.2	25.5	25.8	26.1	6	17.7	15.4	17.3	16.8
6	28.2	24.2	25.8	26.1	5	17.1	16.5	17.3	17.0
7	29.0	26.1	25.9	27.0	4	17.4	15.0	16.1	16.2
8	27.4	26.5	26.1	26.7	3	15.9	14.7	15.3	15.3
9	26.9	25.6	25.6	26.1	2	15.3	13.7	13.6	14.2
10	25.9	26.0	23.8	25.2	1	11.9	11.7	11.2	11.6
	F_e 1.2<F_t 1.64*			μ.t 2.1		F_e 0.49<F_t1.64			μ.t 1.1
Average based on 200 measurements	27.1	24.1	25.5	25.6	Average based on 200 measurements	17.2	15.1	16.6	16.5
	μ.t 1.1					μ.t 0.6			

* Statistical computations by Snedecor's method, t-test at 5 per cent level.

Cell wall thickness did not change significantly among 10 radially consecutive tracheids, neither in the region of early wood nor in that of late wood (Table 3). Only the cell wall thicknesses of the first two tracheids in early wood and of the last one of late wood were lower than the others.

From the comparison of the mean diameters of tracheids which were studied in three samples it may be seen that they differ significantly between each other in early as well as in late wood. No such differences could be demonstrated between mean cell wall thicknesses of tracheids of individual samples either in the region of early or late wood (Table 3). However, mean values of diameter, lumen and cell wall thickness of early and late wood tracheids differ much more significantly between themselves (Table 4).

The results in Table 5 and Fig. 1 show changes in the type of wood that was formed during the season. Since the samples were taken at the beginning of each month, the measured tracheids represent the wood formed in the previous one.

Significant increase of cell wall thickness began not earlier than in September (sample Oct. 2). This gradual rise produced a doubled cell

wall thickness of tracheids at the season's end. The diameter of tracheids first slowly decreased in spring and then stabilized. Only the last tracheids of the annual ring of wood were obviously flattened.

Table 3

European larch seedlings. Cell wall thickness of 10 successive tracheids of early and late wood in microns

Early wood					Late wood				
Successive tracheids from previous year late wood	Samples I	Samples II	Samples III	Average	Successive tracheids from cambium	Samples I	Samples II	Samples III	Average
1	3.4	3.4	3.5	3.4	10	7.9	7.7	7.6	7.8
2	3.3	3.3	3.4	3.3	9	8.0	7.8	7.9	7.9
3	3.5	3.7	3.4	3.6	8	7.9	8.0	8.0	7.9
4	3.9	3.6	3.6	3.7	7	8.1	8.0	7.8	8.0
5	3.8	3.8	3.3	3.7	6	8.3	8.1	7.7	8.1
6	3.8	3.8	3.5	3.7	5	7.8	7.9	8.0	7.9
7	3.9	3.9	4.0	3.9	4	7.9	8.0	8.0	7.9
8	3.9	3.8	3.8	3.8	3	8.1	8.1	7.9	8.1
9	4.0	4.0	3.7	3.9	2	8.2	7.7	7.6	7.8
10	3.7	3.9	3.8	3.8	1	7.0	7.2	6.8	7.0
	F_e 0.65 < F_t 1.64			μ.t 0.3		F_e 1.38 < F_t 1.64			μ.t 0.5
Average based on 200 measurements	3.8	3.7	3.6	3.7	Average based on 200 measurements	7.9	7.9	7.7	7.9
	F_e 1.15 < F_t 3.02					F_e 1.7 < F_t 3.02			

Table 4

European larch seedlings. Radial diameter, cell wall thickness andlumen of early and late wood in third year of vegetation 1957 (each average based on 600 measurements) microns

	Early wood	Late wood	μ.t
Radial diameter	25.6	16.5	0.6
Cell wall thickness	3.7	7.8	0.1
Lumen	21.9	8.7	0.5

Table 5

European larch seedlings. Radial diameter and cell wall thickness of 10 last formed tracheids in radial direction in each individual samples during the third vegetation season 1957

Successive tracheids from cambial zone or first 10 tracheids of early wood	Samples													
	First tracheids of early wood		June 2		July 2		Aug. 2		Sept. 2		Oct. 2		Nov. 4	
	t*	d**	t	d	t	d	t	d	t	d	t	d	t	d
10	3.4	24.9	4.0	26.1	4.3	22.3	4.6	20.4	4.3	22.5	4.8	23.7	7.9	18.9
9	3.3	28.0	4.0	25.2	4.1	20.3	4.9	20.4	4.2	23.2	4.9	23.0	8.0	19.2
8	3.5	27.7	4.0	25.8	4.4	22.4	4.5	20.5	4.2	21.6	5.2	22.0	7.9	19.2
7	3.9	26.1	4.1	25.1	4.2	21.9	4.7	21.6	4.2	21.3	5.5	21.4	8.1	19.2
6	3.8	27.2	4.0	24.5	4.5	22.0	4.5	22.0	4.5	23.2	5.4	21.0	8.3	17.7
5	3.8	28.2	3.9	23.0	4.6	19.6	4.2	22.9	4.3	22.0	5.7	19.1	7.8	17.1
4	3.9	29.0	4.1	22.8	4.5	18.5	4.4	21.6	4.2	21.4	5.7	19.6	7.9	17.4
3	3.9	27.4	4.0	22.3	4.7	19.3	4.1	23.4	4.4	21.9	6.2	20.6	8.1	15.9
2	4.0	26.9	4.0	22.2	5.0	19.4	4.3	22.8	4.4	21.6	6.4	19.8	8.2	15.3
1	3.7	25.9	4.0	23.4	4.9	18.8	4.5	22.9	4.5	22.5	6.6	19.9	7.0	11.9
μ.t	for cell wall thickness 0.6								for radial diameter 2.9					
Correlation coefficient	+0.27		+0.18		+0.06		—0.08		+0.12		—0.13		+0.37	
Correlation coefficient for whole season — 0.28														
Average based on 200 measurements	3.8	27.1	4.0	24.0	4.5	20.5	4.5	21.8	4.3	22.1	5.7	21.0	7.9	17.2
μ.t														
For cell wall thickness					0.2									
For radial diameter of tracheids					0.9									

* t — cell wall thickness of tracheids in microns.
** d — radial diameter of tracheids in microns.

The correlation coefficient for the radial diameter and cell wall thickness of tracheids was quite low in all the samples. The increment of cell wall thickness took place somewhat earlier than the decrease in diameter of tracheids.

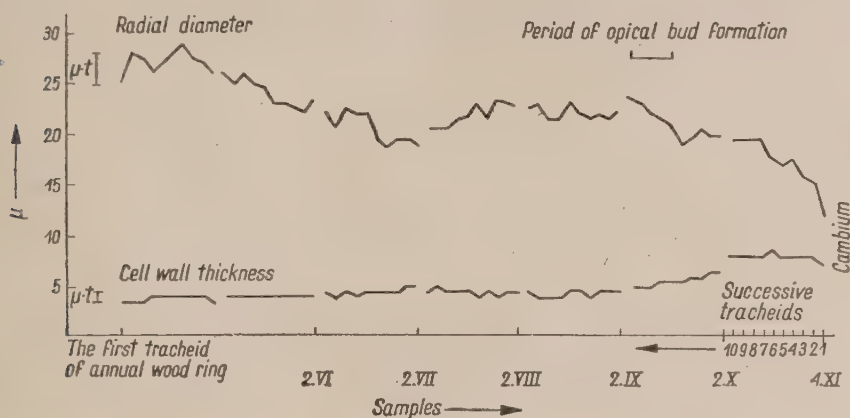


Fig. 1. European larch seedlings. Radial diameter and cell wall thickness of tracheids during the vegetation season 1957

It is interesting, that in samples taken in July and August a certain increase of cell wall thickness and also some decrease of diameter in part of the measured tracheids was observed. In all later studied samples two distinct parallel layers of tracheids were observed with diminished lumen (Fig. 2). This irregularity of wood ring formation may

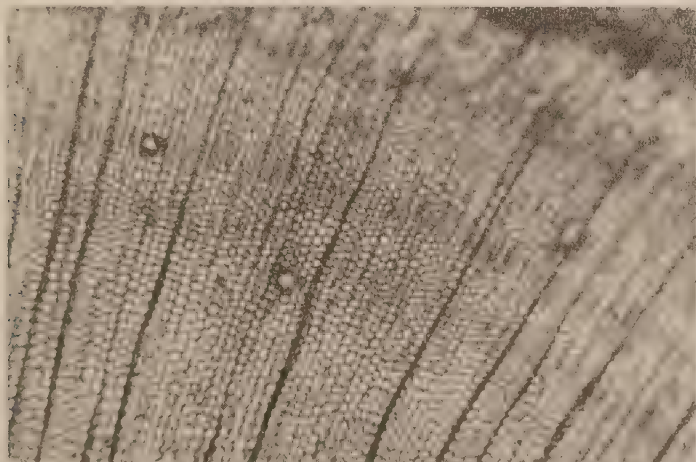


Fig. 2. European larch seedlings. Transversial section of stem at basal level. Two layers of tracheids with smaller lumen are visible

be connected with two periods of drought in the end of May and second decade of June, since other climatic factors did not differ significantly during this time (Table 6).

Resting buds at the end of the lowest lateral shoots had already formed on August and up to September they appeared on ever higher placed lateral shoots (Fig. 3). Terminal buds on the main shoots were last formed in mid September.

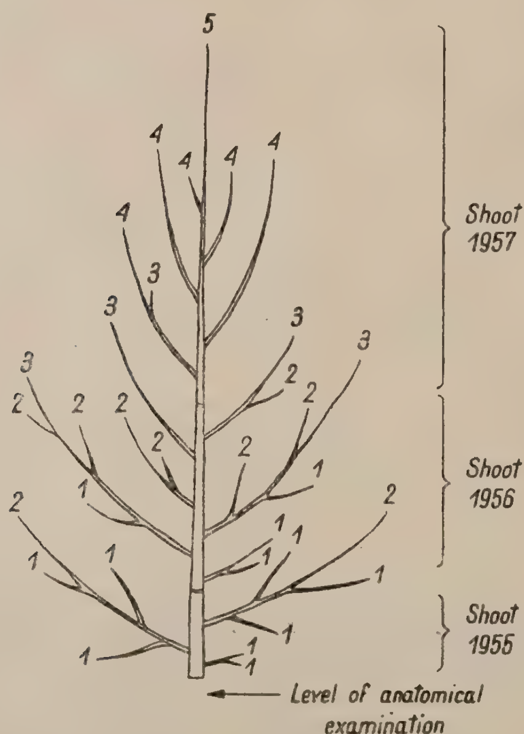


Fig. 3. Relative time of resting bud formation: *1* — earliest; *5* — latest

Simultaneously with measurements of mature tracheids some observations in the cambial zone (on the side of wood formation) were carried out.

Three layers of cells were distinguished in the cambial zone:

1. Cambium layer (C) — flattened, thin walled cambium cells and neighbouring cells where no visible changes of radial diameter (Fig. 4) could as yet be detected.

Table 6

Meteorological data for the southern part of Warsaw city during the vegetation season 1957 (after PIHM*)

Decade	Temperature of air °C averages max.	min.	mean	Rainfall mm	sky overcast	day	Length of day (from sunrise to sunset)
May							
I	10.1	3.5	6.5	38.6		1	14h 54 min.
II	21.9	9.7	15.8	0.6		11	15h 30 ,,
III	15.6	6.8	11.0	2.5		21	16h 01 ,,
mean, total	15.9	6.7	11.2	41.7	6.0		
June							
I	22.3	12.5	17.4	18.8		1	16h 24 ,,
II	26.2	13.0	19.8	0.1		11	16h 42 ,,
III	23.8	12.9	17.8	9.3		21	16h 48 ,,
mean, total	24.4	12.8	18.3	27.9	4.7		
July							
I	28.2	15.4	21.3	19.2		1	16h 42 ,,
II	24.3	16.0	19.7	39.5		11	16h 24 ,,
III	21.2	14.3	18.6	28.8		21	16h 03 ,,
mean, total	24.5	15.0	19.2	87.5	6.4		
August							
I	23.3	13.1	17.6	28.3		1	15h 31 ,,
II	24.3	14.6	18.6	27.9		11	14h 57 ,,
III	18.6	10.1	13.7	37.0		21	14h 24 ,,
mean, total	21.9	12.6	16.5	93.2	5.7		
September							
I	21.1	11.1	15.3	5.4		1	13h 47 ,,
II	16.0	8.6	11.5	23.1		11	12h 56 ,,
III	12.9	6.3	9.0	37.4		21	12h 17 ,,
mean, total	16.7	8.7	12.0	65.9	6.7		
October							
I	12.7	4.1	8.0	5.2		1	11h 37 ,,
II	14.7	6.4	10.0	1.1		11	10h 57 ,,
III	12.6	5.8	8.9	2.8		21	10h 18 ,,
mean, total	13.3	5.4	9.0	9.1	6.7		
November							
I	13.9	6.7	9.8	0.6		1	9h 36 ,,
II	3.9	—5.7	1.2	0.0		11	9h 00 ,,
III	5.2	—3.6	1.9	25.4		21	8h 29 ,,
mean, total	7.7	0.9	4.3	26.0	7.8		

* State Hydro-Meteorological Institute.

2. Layer of radial diameter growth (*G*) — thin walled cells with wide lumen, in which visible thickening or lingnification of cell walls could not be detected.

3. Differentiation* layer (*D*) — full grown cells, visible thickening and partial lignification of cell walls. Presence of protoplasm still observed in these cells.

Results of observations in the cambial zone are presented in Table 7:

1. At the beginning of wood ring formation (May 2, Fig. 5) there was a preponderance of cambial cells in the whole cambial zone.

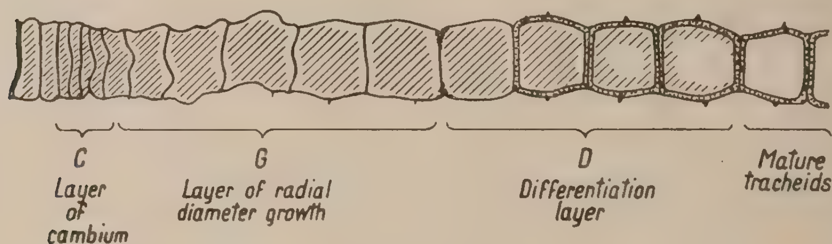


Fig. 4. Cambial zone

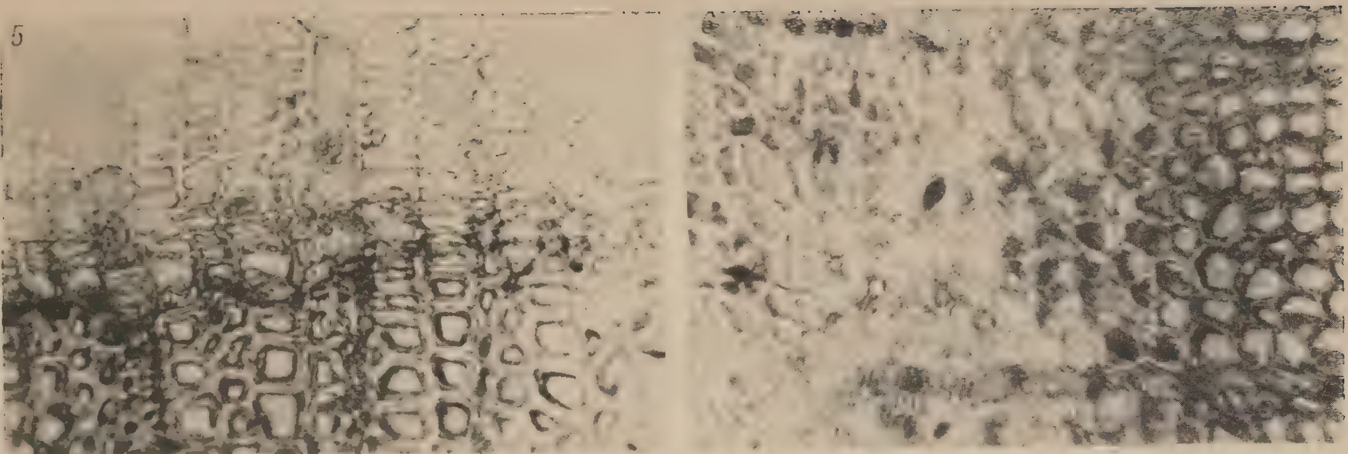
Table 7

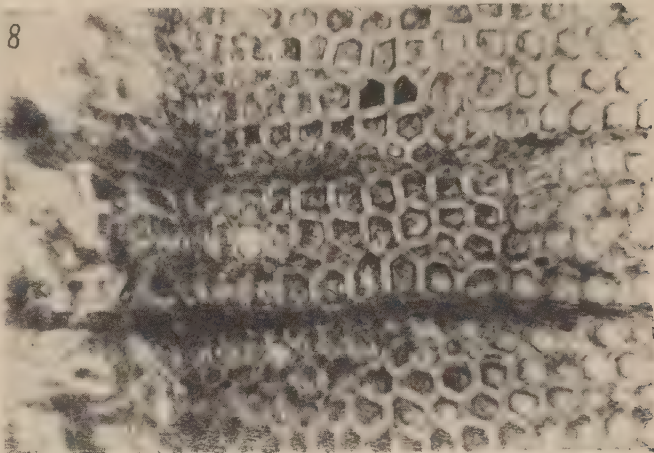
European larch seedlings. Number of cells in particular layers of cambial zone during the vegetation season 1957

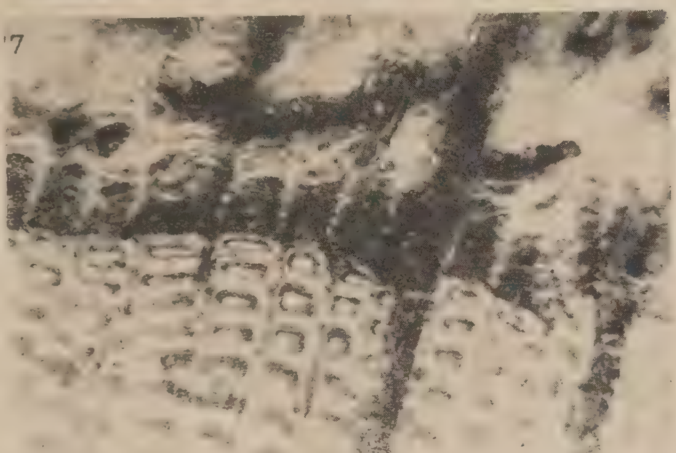
Samples	Number of cells (averages from 5 plants)			
	C	G	D	total
May 2. 1957.	7.3±0.3	3.3±0.5	0.4±0.2	11.0±0.7
June 2. 1957.	3.9±0.2	6.0±0.3	3.6±0.1	13.5±0.4
July 2. 1957.	3.7±0.2	4.9±0.3	3.4±0.2	12.0±0.5
August 2. 1957.	3.2±0.2	5.5±0.4	3.6±0.2	12.2±0.6
September 2. 1957.	3.0±0.1	6.2±0.6	4.8±0.4	14.0±1.0
October 2. 1957.	2.5±0.2	3.0±0.4	10.8±1.0	16.3±1.1
November 4. 1957.	5.3±0.2	0.0	0.0	5.3±0.2
December 23. 1957.	5.0±0.2	0.0	0.0	5.0±0.2

2. The total number of living cells in the cambial zone seems to be approximately constant during the summer months. Thus, it seems probable that the rate of cambial divisions in this period is almost proportional to the increment of fully differentiated tracheids. Simul-

* The term „differentiation" is mostly used in the present paper to denote processes bringing about cell wall thickening.







European larch seedlings. Transversial sections of the cambial zone in different time of vegetation season 1957

Fig. 5. May 2; Fig. 6. June 2; Fig. 7. November 4; Fig. 8. October 2

taneously, the mutual ratio of individual layers (distinguished above) proved to be similar during summer months. The situation in the cambial zone in June may be seen on Fig. 6.

At the end of the season (Oct. 2, Fig. 8) significant increase of the number of cells in the whole cambial zone, generally due to a nearly threefold increment of cell number in the differentiation layer, was observed. The number of cells in the radial diameter growth layer simultaneously decreased considerably.

4. In the first days of November (Fig. 7) the cambial cells adherring closely to the mature tracheids of summer wood could only be distinguished. Radial walls of the cambial cells were thickened and the general pattern of the cambium was similar to that observed during winter dormancy.

Table 8

European larch seedlings. Number of cells in the cambial zone and increment of tracheids during vegetation season 1957 (averages from 5 plants)

Samples	Period	Number of cells in cambial zone	Difference in cell number of cambial zone	Increment of tracheids	$\frac{3}{4+5}$
1	2	3	4	5	6
May 2		11.0			
	May 2 — June 2		+2.5	22	$\frac{13.5}{24.5} = 0.6$
June 2		13.5			
	June 2 — July 2		—1.5	18	$\frac{12.0}{16.5} = 0.7$
July 2		12.0			
	July 2 — Aug. 2		+0.3	18	$\frac{12.3}{18.3} = 0.7$
Aug. 2		12.3			
	Aug. 2 — Sept. 2		+1.7	28	$\frac{14.0}{29.7} = 0.5$
Sept. 2		14.0			
	Sept. 2 — Oct. 2		+2.3	12	$\frac{16.3}{14.3} = 1.1$
Oct. 2		16.3			
	Oct. 2 — Nov. 4		—11.0	16	$\frac{5.3}{5.0} = 1.1$
Nov. 4		5.3			

On basis of observations on the width of the cambial zone and of the number of cells formed in monthly intervals an attempt was undertaken to compare the length of cell life from the moment of division to the end of full differentiation. The visible lack of protoplasm in cells nearest to the cambial zone was adopted as criterion of cessation of the differentiation process. The ratio of the cell number in the cambial zone

to the total number of tracheids formed during the studied period plus the difference in the number of living cells, may be treated as a kind of indicator of the length of cell life in the cambial zone, since it is believed that it indicates, what part of the examined period, each cell spent in the cambial zone.

The dates in Table 8 show that towards the end of the vegetation season cell life was longer. It has been previously pointed out that the differentiation layer in this period was wider. Thus it is probable that the major part of the life of cells in the cambial zone in autumn, falls in the period of thickening and lignification of the cell walls.

Larix polonica Rac.

Further investigations were carried out with seedlings of *Larix polonica* Rac., only at the end of the vegetation season. Owing to the shorter period of studies, more plants could be taken under observation and a greater precision of results was achieved.

For determining the kind of wood that was formed, the 4 last tracheids in radial direction were measured. In this way, mean values of cell wall thickness and radial diameter of tracheids were calculated

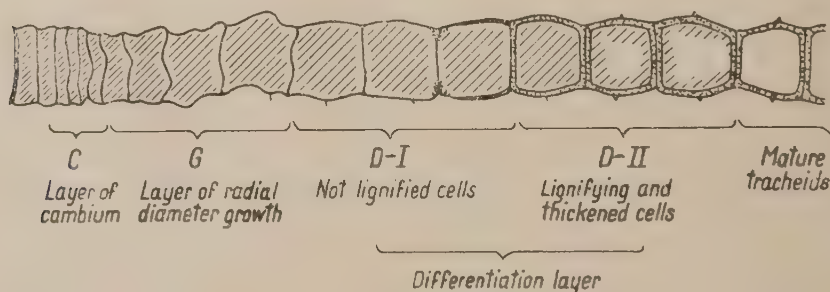


Fig. 9. Cambial zone

on the basis of 320 measurements in each sample. Samples were taken more frequently and measurements in some cases might have partly regarded tracheids that had already been formed in the previous period. Simultaneously, the 4 first tracheids of early wood in radial direction were measured at all sections of all samples, for control and comparison.

As before, fully differentiated tracheids and cells in the cambial zone (in radial direction) were counted. On the basis of more detailed

Table 9

Polish larch seedlings. Number of cells and characterization of wood elements in the last part of the vegetation season 1958

Samples	Cambial zone (number of cells)										Number of mature tracheids	Total: mature tracheides + (G)+(D)	Tracheids		
	Number of examined radiuses	Layer		Total (C)+(G)	Number of examined radiuses	Layer of differentiation (D)			Total layers (G)+(D)	Entire cambial zone			cell wall thicknesses		diameter
		Cambium (C)	Rad. diam. growth (G)			D—I	D—II	D—I+D—II					Wood actually formed	Early wood	Wood actually formed
4.VIII.1958	46	3.7	4.0	7.7	80	2.2	2.0	4.2	8.2	11.9	16.9	25.1	3.3	3.2	13.6
1.IX. 1958	48	3.7	3.8	7.5	80	2.7	2.9	5.6	9.4	13.1	26.0	35.4	3.6	3.3	14.2
29.IX. 1958	58	4.1	3.6	7.7	80	3.3	3.9	7.2	10.8	14.9	31.6	42.2	4.1	3.3	14.9
13.X. 1958	65	4.4	2.5	6.9	80	3.0	4.4	7.4	9.9	14.3	36.7	46.6	4.2	3.3	14.7
20.X. 1958	65	4.5	1.9	6.4	80	3.1	4.4	7.5	9.4	13.9	38.6	48.0	4.2	3.3	16.3
27.X. 1958	76	5.3	1.6	6.9	80	2.7	6.1	8.8	10.4	15.7	44.1	54.5	4.5	3.2	15.1
3.XI. 1958	80	4.4	0.5	4.9	80	2.3	5.7	8.0	8.5	12.9	48.3	56.8	4.6	3.3	14.7
10.XI. 1958	80	4.5	0.4	4.9	80	0.4	4.7	5.1	5.5	10.0	49.4	54.9	5.2	3.4	14.2
24.XI. 1958	80	5.1	0.2	5.3	80	0.3	1.8	2.1	2.3	7.4	53.8	56.1	4.8	3.5	13.7
1.XII. 1958	80	4.9	0.3	5.2	80	0.2	1.3	1.5	1.8	6.7	56.4	58.2	4.9	3.3	14.1
24.I. 1959	80	4.6	0.2	4.8	80	0.0	0.1	0.1	0.3	4.9	55.3	55.6	5.0	3.5	12.8
		μ.t 0.3—0.4					μ.t 0.4	μ.t 0.5					μ.t 0.1	3.35 mean value of 3520 measurements	

* In each plant 4 perpendicular radiuses were examined, except those of the first samples where some parts of the cambial zone were destroyed by preparation (when the shoot is growing actively the cambial zone is still very delicate).

observations, certain modifications were introduced in the division of the cambial zone established in 1957. A layer of cambium (*C*) was distinguished, a layer of radial diameter growth (*G*), as previously, and moreover, the layer of differentiation was divided into two parts: the unlignified, thin-walled cells (*D-I*) and lignifying cells with visible thickening of cell walls (*D-II*) (Fig. 9).

Cells in the layer of radial diameter growth could be easily distinguished from the next layer of differentiation, due to their very thin and soft walls which were nearly always creased by preparation. There exists a distinct boundary in the cambial zone where the cells adjoining the radial diameter growth layer are stiff walled, though these walls are not thickened yet. It may thus be supposed that these are the cells which just ended the radial diameter growth *.

Investigations were carried on from August 4 till the end of the season. The first buds on main shoots appeared somewhere about September 15, at the end of September all seedlings had formed resting buds but the colour of bud scales changed until the middle of October and higher parts of the main shoots remained not fully lignified for the next 3-4 weeks.

Results of measurements are shown in Table 9. It is seen that during the part of the vegetation season under consideration and during winter rest, the number of cells in the cambium layer was generally the same (4-5 cells). In the radial diameter growth layer, however, since mid October (13—20.X.) the number of cells diminished and at the beginning of November they practically disappeared. Thus, the cambial zone at this time consisted only of a cambium layer and a layer of tracheid differentiation (Fig. 10). The number of cells in the differentiation layer gradually increased from the beginning of September. Maximal width of this layer was reached in October and then gradually decreased. This increment of the number of cells in the differentiation layer was generally due to a more than twofold increment of cells whose walls were thickening and lignifying. The total width of the cambial zone was also greater at this time, but simultaneosly a decrease of the number of cells in the radial diameter growth layer was observed so this total increment was small.

The number of fully differentiated tracheids increased in radial direction approximately at a uniform rate until the end of the studied

* The cells of the differentiation layer could be distinguished from fully differentiated tracheids due to the lack of protoplasm in the latter. The staining method used in these examinations proved very useful for these observations.

part of the vegetation season. However, the total increase of fully differentiated tracheids and cells in the cambial zone (without the cambium layer), was visibly arrested at the end of October (Fig. 11). This period may be considered as the time of cessation of cambial

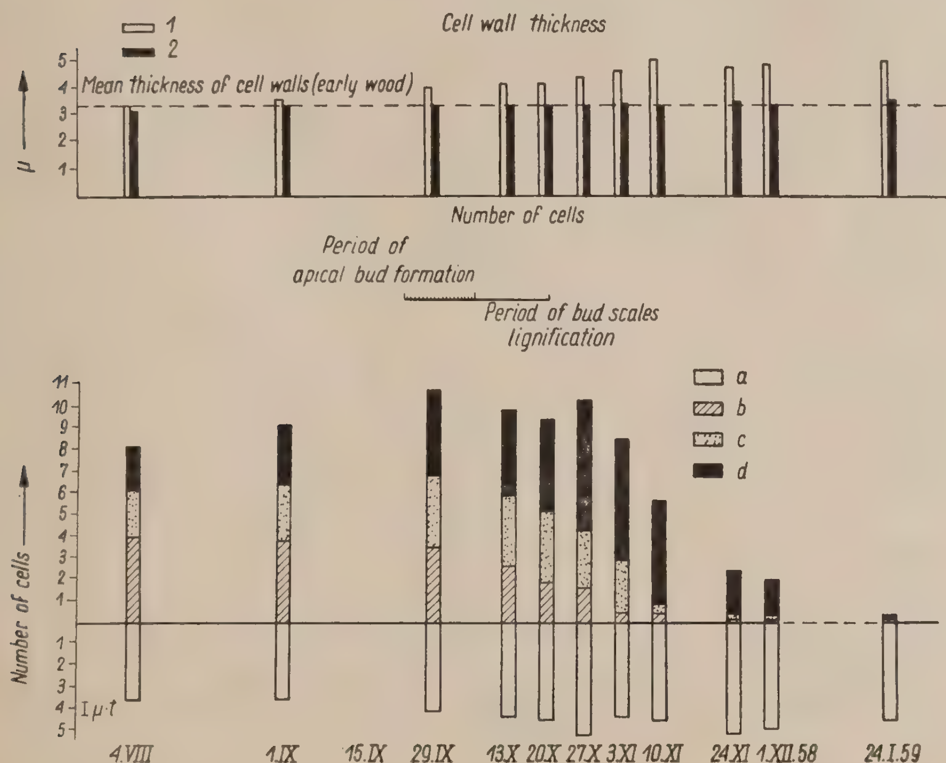


Fig. 10. Polish larch seeedlings. Changes of the cell number in cambial zone and increase of the cell wall thickness in the end of vegetation season 1958; *1* — wood actually formed; *2* — early wood; *a* — (C) layer of cambium; *b* — (G) layer of radial diameter growth; *c* — (D—I) and *d* — (D—II) layer of differentiation

activity (cambial cells division). Therefore the increment of mature tracheids observed later might only be connected with gradual protoplasm dissappearance in the earlier formed cells.

Cessation of differentiation of the last layer cells in the cambial zone on the side of wood formation was observed at the beginnig of December. Thus, it may be supposed that the period of life of these last

cells in the annual ring (from the time of division until full differentiation of the tracheid) lasted about one month or some more.

No thick-walled tracheids were observed on August 4. A small increase of cell wall thickness was noted on September 1, but still it was not significantly higher than in tracheids of spring wood (Fig. 10). During the next few weeks the cell wall thickness of newly formed

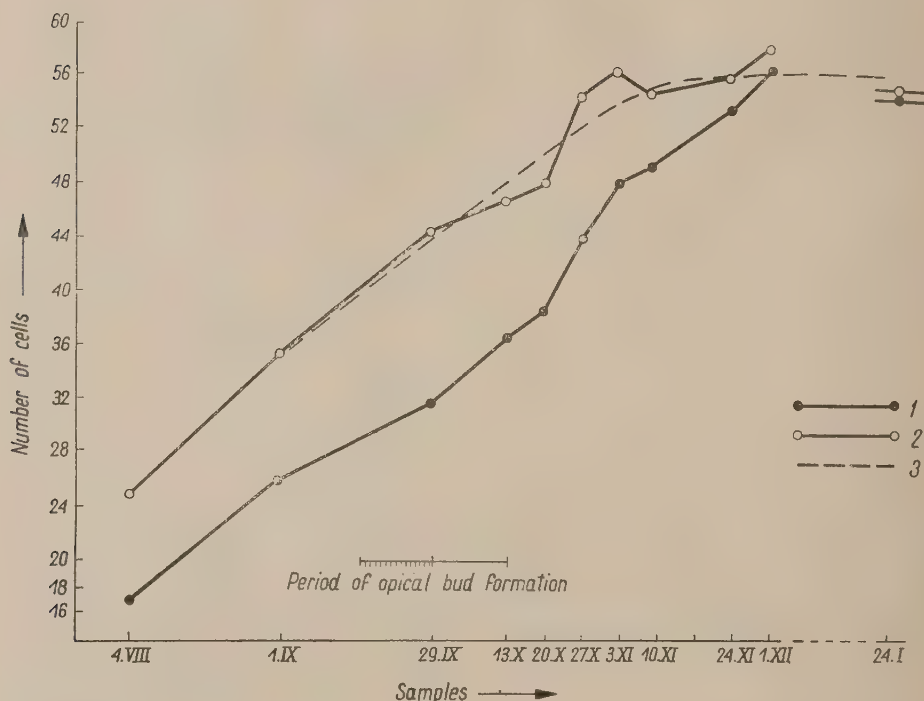


Fig. 11. Polish larch seedlings. Increase of total number of tracheids and cells of cambial zone in the end of vegetation season 1958: *1* — mature tracheids; *2* — mature tracheids plus cells in cambial zone (without the layer of cambium); *3* — mean

tracheids gradually but visibly rose till November and finally was stabilized. Thus, a clear correlation between the width of the tracheidal differentiation layer of the cambial zone and cell wall thickness of tracheids was observed as in the previous year.

Radial diameter of tracheids during the investigated part of the season was generally constant and only the last few tracheids were visibly flattened.

SUMMARY

On basis of studies on wood ring differentiation in 2- and 3-years-old larch grown in natural conditions it was observed that cell wall thickness of tracheids is correlated with the width of the tracheid differentiation layer of the cambial zone. It may be supposed that this process is connected with the length of cell life (from the moment of division in the cambium layer to the disappearance of protoplasm at the time of full differentiation of the tracheids), and particularly with the length of the diferentiation period after the cessation of radial diameter growth. Lack of clear correlation between changes of radial diameter and cell wall thickness of tracheids seems to show a greater independence each other of the processes responsible for these changes, however, it is, possible that they may be affected by the same environmental factors as observed in the case of drought.

Resting bud appearance on the main shoots was observed together with the first signs of late wood formation, it cannot, howewer, be regarded as a relationship between extension growth and late wood formation, because appearance of resting buds on the lower lateral shoots was observed much earlier than on the main shoot at the time, when thin-walled tracheids were still forming.

Results of this work will be discussed in detail after ending the series of experiments.

The author is much indebted to Professor Dr. H. Birecka for her valuable advice and criticism and Dr W. Żelawski for his helpful discussions and advice in the course of work. Thanks are also due to Professor Dr H. Teleżyński for his advice concerning anatomical observations in the cambial zone.

(Entered: 10.6.1960.)

Department of Plant Physiology,
Agricultural College SGGW
Warsaw

REFERENCES

Molski B., Żelawski W., 1958, Wstępne badania anatomiczne procesu kształtowania się drewna późnego w słoju rocznym u siewek modrzewia *(Larix europaea* D. C.) w związku z warunkami długości oświetlenia dzienego. Acta Soc. Bot. Pol. 27 (1): 83—102.

Nitsch J. P., 1957. Photoperiodism in woody plants, Proc. Am. Horst. Sci. 70: 526—544.

Priestley J. H., Scott L. I., 1936 A note upon summer wood production in the tree, Proc. Leeds Phil. and Lit. Soc. Sci. Sec. 3: 235—248.

Wareing P. F., 1948, Photoperiodism in woody species, Forestry 22 (2): 211—221.

Wareing P. F., 1951, Growth studies in woody species. III Further photoperiodic effect in *Pinus silvestris*, Physiologia Plantarum 4 (1): 546—561.

Wareing P. F., 1956, Photoperiodism in woody plants, Ann. Rev. of Plant Physiology 7: 191—214.

Wareing P. F., Roberts D. L., 1956, Photoperiodic control of cambial activity in *Robinia pseudacacia* L. The New Phytologist 55: 356—366.

Wight W., 1933 Radial growth of the xylem and starch reserves of *Pinus silvestris*, a preliminary survey, The New Phyt. 32: 77—96.

Wodzicki T., 1961, Związek między wzrostem na wysokość i tworzeniem się drewna w świetle badań nad reakcją fotoperiodyczną drzew, Wiadomości Botaniczne (in press).

Żelawski W., 1956, Badania rocznej rytmiki rozwojowej rośliny drzewiastej ze szczególnym uwzględnieniem reakcji fotoperiodycznej siewek modrzewia europejskiego, Acta Soc. Bot. Pol. 25 (2): 245—274.

Żelawski W., 1957, Dalsze badania reakcji fotoperiodycznej siewek modrzewia (*Larix europaea* D. C.), Acta Soc. Bot. Pol. 26 (1): 80—103.

Żelawski W., Wodzicki T., 1960, Różnicowanie się słoja drewna u siewek *Picea excelsa* Lk. w związku z rytmiką dziennego oświetlenia, Folia Forestalia Pol. 2, ser. A 113—121.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Zmienność frakcji azotowych w izolowanych zarodkach *Lupinus mutabilis* Sweet

The change of organic nitrogen fractions in isolated Lupinus mutabilis Sweet embryos

J. ROGOZIŃSKA

Problem metabolizmu azotowego łubinu badany był przez wielu autorów.

Bonnet (1929) badając metabolizm azotowy łubinu żółtego w wczesnych fazach kiełkowania stwierdził znaczny wzrost azotu aminowego i amidowego w drugim dniu kiełkowania.

Późniejsze fazy zmiany składników azotowych zachodzące w łubinie badała McKie (1931). Stwierdziła ona najniższe wartości dla azotu białkowego w 18 dniu i zmniejszenie azotu aminowego i amidowego począwszy od ósmego dnia.

McRary (1940) badając metabolizm azotowy nie izolowanych zarodków łubinu stwierdził, że białko ulega przemieszczeniu z liścieni do rozwijających się właściwych zarodków przez pierwszych dwanaście dni i gromadzi się tam jako aminokwasy i amidy, przy czym minimum azotu białkowego w zarodku przypada w dziewiątym dniu. Ponieważ McRary badał metabolizm azotowy liścieni i całych zarodków, wydawało się ciekawe zbadanie zmian zachodzących w izolowanych zarodkach, a więc pozbawionych źródła odżywczego, jakie stanowią liścienie w pierwszym okresie wzrostu rośliny, analizując oddzielnie pęd i korzeń. Maróti i in. (1957) stwierdził w strefach merystematycznych korzeni młodych roślin fasoli szybszy podział komórek i szybsze ich różnicowanie, szybszy wzrost na długość i zwiększenie masy. Różnice te poparte były intensywniejszą przemianą materii w korzeniu niż w łodydze.

Celem niniejszej pracy jest więc dostarczenie danych odnoszących się do metabolizmu azotowego izolowanych zarodków, jego związku ze wzrostem i rozwojem organów.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał wyjściowy stanowiły nasiona łubinu zmiennego (*Lupinus mutabilis* Sweet), otrzymane od dra Nowackiego z Zakładu Hodowli Roślin PAN.

Zarodki izolowano w sposób podobny, jak w jednej z poprzednich prac (Rogozińska 1958). Po powierzchniowej 10 min. sterylizacji 0,2% sublimatem, nasiona moczono przez 12 godzin celem spęcznienia, po czym zarodki izolowano i wyszczepiano umieszczając po 3 w probówkach, w pozycji pionowej, zagłębiając radikulę na 1,5—2,0 mm w pożywce. Stosowano pożywkę Hellera, do której dodawano 4% sacharozy i 1% agaru. Ilość azotu w agarze wynosiła 0,26%. W pożywkach bezazotowych azotan sodu zastąpiono dla zrównoważenia ciśnienia osmotycznego pożywki odpowiednią ilością chlorku sodu. Po 2, 7, 9 i 13 dniach inkubacji w temperaturze 25°C w ciemności, odcinano korzenie od hypokotyli, mierzono, ważono i oznaczano azot całkowity i rozpuszczalny metodą mikro-Kjeldahla. Do oznaczeń azotu całkowitego odważano 20 mg suchej masy, dodawano około 60 mg katalizatora selenowego oraz 0,5 ml stężonego kwasu siarkowego i spalano w probówkach w bloku glinowym. Amoniak oddestylowywano do 5 ml 2% kwasu borowego, po czym miareczkowano n/28 HCl, wobec wskaźnika Tashiro. Azot rozpuszczalny ekstrahowano etanolem z jednego grama świeżej masy. Stężenie etanolu w homogenizacie wynosiło 75%. Po odwirowaniu supernatant dopełniano do 10 ml, po czym brano po 3 ml do równoległych analiz na azot rozpuszczalny. Oznaczano go sposobem opisanym wyżej dla azotu całkowitego. Azot białkowy obliczano z różnicy azotu całkowitego i rozpuszczalnego.

Redukcji azotanów nie przeprowadzano i azot rozpuszczalny azotanów nie obejmuje.

Wszystkie dane stanowią średnią z dwóch powtórzeń obejmujących po 40 zarodków.

Błąd średni średniej arytmetycznej, wynikający z różnic indywidualnych zarodków, wynosił 1,8—2,3%, a poszczególnych oznaczeń azotu 2,1%.

I. Charakterystyka izolowanych zarodków

Charakterystykę zarodków w momencie izolowania, tzn. po 12-godzinnym spęcznieniu nasion przedstawia poniższa tabelka:

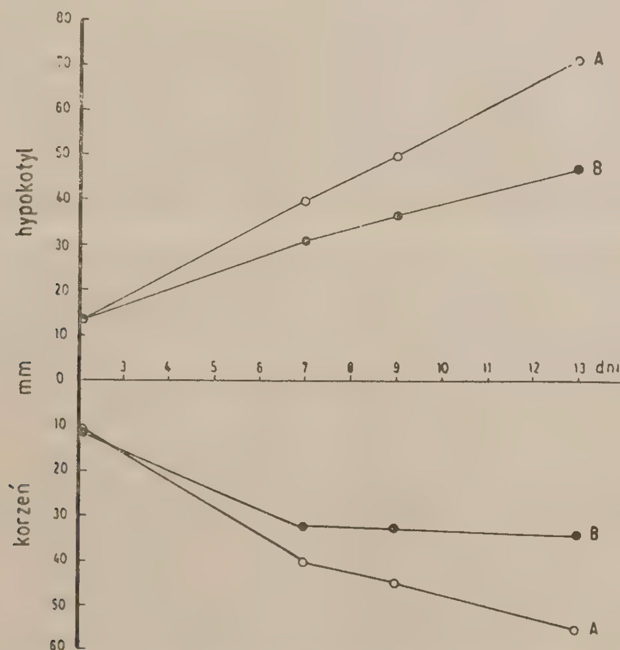
świeża masa mg/zarodek fresh weight mg/embryo	30,3

sucha masa mg/zarodek dry weight mg/embryo	10,0
% suchej masy % dry weight	32,9
N całkowity µg/zarodek N total µg/embryo	800
N rozpuszczalny µg/zarodek N soluble µg/embryo	12
N nie rozpuszczalny µg/zarodek N nonsoluble µg/embryo	788
N całkowity w % suchej masy N total % dry weight	8,0
N rozpuszczalny w % N całkowitego N soluble % N total	15,2

II. Wzrost zarodków na pożywce pełnej z $NaNO_3$(A) i bez $NaNO_3$(B)

1. Wzrost na długość

Po dwóch dniach hodowli hypokotyle i korzenie bezliścieniowych roślinek osiągają w przybliżeniu tę samą długość. W miarę upływu cza-



Ryc. 1. Wzrost wyizolowanych zarodków łubinu w mm na organ, hodowanych na pożywce z $NaNO_3$ *(a)* i bez $NaNO_3$ *(b)*, po 2, 7, 9 i 13 dniach hodowli
Growth of isolated embryos in mm/organ on medium with $NaNO_3$ *(a)*, and withaut $NaNO_3$ *(b)*, after 2, 7, 9 and 13 days of cultivation



Ryc. 2. Bezliścieniowe siewki *Lupinus mutabilis* hodowane na pożywce z $NaNO_3$ (*a*) i bez $NaNO_3$ (*b*) po 2, 7, 9 i 13 dniach hodowli

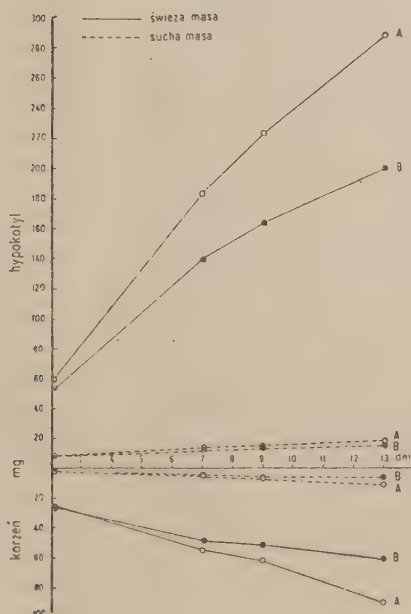
Cotyledon-less seedlings of Lupinus mutabilis grown on medium with $NaNO_3$ (*a*) and without $NaNO_3$ (*b*), after 2, 7, 9 and 13 days of cultivation

su, na pożywkach z niedoborem azotu objawia się zahamowanie wzrostu zarówno hypokotyli, jak i korzeni. Korzenie nie reagują więc w charakterystyczny sposób wydłużeniem na brak azotu. Tempo wzrostu siewek szczegółowiej ilustrują ryc. 1 i 2.

Począwszy od 9 dnia hodowli na korzeniach zarodków rosnących na pożywce z $NaNO_3$ rozwijały się korzenie boczne w 56%, natomiast nie pojawiały się na korzeniach zarodków hodowanych bez $NaNO_3$. Po upływie 13 dni korzenie boczne obecne były również na korzeniach zarodków pochodzących z pożywek pozbawionych $NaNO_3$, jednak stanowiły one tu tylko 14%, podczas gdy na pożywkach z $NaNO_3$ 92%.

2. Przyrost świeżej i suchej masy

W miarę rozwoju zarodków hodowanych na pożywce z $NaNO_3$ następuje normalny i proporcjonalny wzrost ich świeżej i suchej masy. Za-



Ryc. 3. Świeża i sucha masa hypokotyli i korzeni zarodków w mg/organ, na pożywce z $NaNO_3$ (*A*) i bez $NaNO_3$ (*B*), po 2, 7, 9 i 13 dniach hodowli

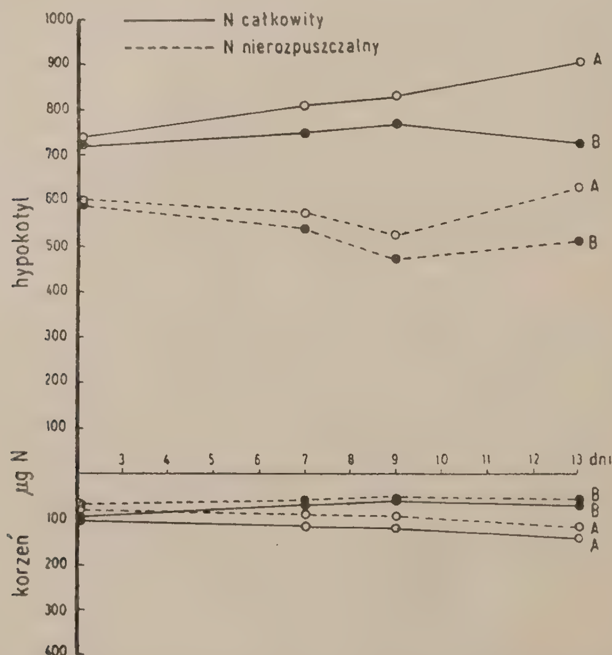
Fresh and dry hypocotyl and root weights in mg/organ on medium with $NaNO_3$ (*A*) and without $NaNO_3$ (*B*) after 2, 7, 9 and 13 days of cultivation

rodki pozbawione $NaNO_3$ wykazują mniejszy przyrost. Zahamowanie przyrostu świeżej, jak i suchej masy zwiększa się w miarę upływu czasu. Przedstawia to dokładniej wykres na ryc. 3.

III. Metabolizm azotowy

1. Zarodki hodowane na pożywce z $NaNO_3$

Dane odnoszące się do azotu całkowitego, wyrażone w µg/organ suchej masy, wykazują zwiększenie jego ilości zarówno w hypokotylu, jak i w korzeniu od momentu wyszczepienia do końca badanego okresu. W 9 dniu hodowli krzywa dla azotu rozpuszczalnego wykazuje maksimum dla hypokotylu i minimum dla korzenia. Ilość azotu białkowego zmniejsza się do 9 dnia w hypokotylu, po czym wzrasta, natomiast w korzeniu wzrasta przez cały okres.



Ryc. 4. Zmienność frakcji azotowych po 2, 7, 9 i 13 dniach hodowli w µg/organ suchej masy

The change in nitrogenous fractions after 2, 7, 9 and 13 days of cultivation in µg/organ dry weight

2. Zarodki hodowane na pożywce pozbawionej $NaNO_3$

Ilość azotu całkowitego w hypokotylu zwiększa się tylko do 9 dnia hodowli, po czym spada poniżej wartości odpowiadającej drugiemu dniu. Odwrotnie w korzeniu, do 9 dnia obserwujemy zmniejszenie ilości azotu całkowitego, a następnie dopiero zwiększenie. Zwiększenie ilości azotu w zarodkach hodowanych na pożywce pozbawionej $NaNO_3$ nastąpiło na skutek pobrania azotu z agaru, w którym — jak wykazały analizy wstępne — jest 2,6 mg azotu na 1 g agaru, co w przeliczeniu na pożywkę znajdującą się w jednej probówce odpowiadałoby 0,325 mg azotu, a więc na jeden zarodek przypadałoby 0,108 mg azotu. Zwiększenie ilości azotu całkowitego w zarodkach hodowanych na pożywkach pozbawionych $NaNO_3$ świadczy o wykorzystaniu tego źródła azotu w metabolizmie zarodków. Jednak w 13 dniu ilość azotu spada do wartości wyjściowej zarodka, co wytłumaczone być może wydzielaniem azotu do pożywki. Fries i Kandler stwierdzili również w sterylnej hodowli organów wydzie-

Tabela 1

Zmienność azotu całkowitego w % suchej masy i rozpuszczalnego w % azotu całkowitego

The change in total nitrogen in % dry weight and soluble in % total nitrogen

Czas w dniach Time in days	Organ	N całkowity w % suchej masy Total N in % dry weight		N rozpuszczalny w % N całkowitego Soluble N in % total N	
		$+NaNO_3$	$-NaNO_3$	$+NaNO_3$	$-NaNO_3$
2	hypokotyl hypocotyl	8,2	8,1	19,4	18,3
	korzeń root	4,7	4,3	28,1	31,1
7	hypokotyl hypocotyl	6,4	6,2	30,2	27,9
	korzeń root	2,3	1,4	24,8	16,6
9	hypokotyl hypocotyl	5,9	5,7	38,7	37,9
	korzeń root	1.8	1.2	17,2	14,6
13	hypokotyl hypocotyl	5,5	5,0	30,6	29,3
	korzeń root	1,3	1,0	17,1	14,2

lanie zarówno aminokwasów, jak i kwasów nukleinowych do pożywki. Ilość azotu białkowego w hypokotylach i korzeniach zmniejszała się do dziewiątego dnia hodowli, po czym wzrastała.

DYSKUSJA

McRary (1940) wykazał w pracy nad metamolizmem azotowym nie izolowanych zarodków, że azot przemieszczany jest z liścieni do zarodków przez około pierwszych 12 dni, przy czym przyrost azotu całkowitego zarodków idzie w parze ze zmniejszeniem ilości azotu białkowego liścieni. Azot białkowy zarodków i azot aminowy, jak i amidowy azot liścieni, wykazywał stosunkowo małe zmiany w 15-dniowym okresie hodowli. Stężenie azotu aminowego było dość stałe w zarodkach obniżając się nieco w 15 dniu. Również stężenie amidów, z wyjątkiem drugiego dnia hodowli, było w zarodkach stałe do 12 dnia, po czym obniżyło się. Natomiast stężenie amidów w liścieniach stopniowo się zmniejszało. McRary badał zmiany zachodzce w całych zarodkach, nie oddzielał pędu od korzenia. Robinson i in. (1952) stwierdzili w aktywnej fazie wzrostu w komórkach korzenia grochu 2—3-krotne zwiększenie zawartości białka w stosunku do ilości początkowej. Zwiększenie to jest zgodne z maksimum wzrostu na długość korzenia. Petschenizina (1951) wskazuje na związek między przyrostem suchej masy i syntezą białka, jednak synteza białka jest wolniejsza. Istnieje więc korelacja między wzrostem komórki, organu i frakcjami azotu, a mianowicie białka.

Spośród niewielu prac o przewyższającej syntezie korzenia w stosunku do pędu na większą uwagę zasługuje praca Marótiego (1957), przeprowadzona na 6-dniowych siewkach fasoli, a następnie izolowanych pędach i korzeniach. Autor stwierdził, że korzeń rozporządza lepszym zaopatrzeniem w azot niż pęd zarówno w stosunku do wartości absolutnych organu, jak i w przeliczeniu na jedną komórkę. Jednakże azot wyrażony w % suchej masy nie wykazuje w korzeniu wyższych wartości. Wartości przeliczone na jedną komórkę, szczególnie w hodowlach izolowanych, wykazują, że każda komórka korzenia zawierała o 100% więcej azotu niż komórka pędu. Azot białkowy stanowił 50—70% azotu całkowitego. Zreasumowane wyniki Marótiego wykazują więc, ze ilość azotu białkowego oraz azotu całkowitego, tak na cały organ, jak i na komórkę, większa jest w korzeniu niż w pędzie zarówno w 6-dniowych siewkach, jak i w następnie izolowanych organach.

Wyniki Marótiego są w zgodzie z pracami Bonnera i Friesa (Maróti 1957), stwierdzającymi, że korzenie zawierają więcej azotu białkowego niż pędy.

Z danych przedstawionych w niniejszej pracy wynika, że w hypokotylach i korzeniach izolowanych zarodków łubinu, hodowanych na pożywkach bez azotanu sodu, zmniejsza się ilość azotu białkowego do 9 dnia hodowli. Po 9 dniach hodowli następuje zwiększenie syntezy białka zarówno w korzeniach, jak i hypokotylach. Podobne wyniki otrzymał McRary w badaniach przeprowadzonych na całych zarodkach łubinu nie izolowanych, hodowanych w wodzie. W hypokotylach zarodków hodowanych na pożywce z azotanem sodu, podobnie jak w hodowanych na pożywce pozbawionej tego związku ilość azotu białkowego do 9 dnia również opada. Inaczej natomiast zachowuje się korzeń. Tu ilość azotu białkowego wzrasta w całym okresie hodowli. W końcu badanego okresu, tzn. w 13 dniu hodowli, sumaryczna ilość białka korzenia i hypokotylu zarodków, hodowanych na pożywce z $NaNO_3$ i bez niego, nie osiąga jeszcze wartości wyjściowej. W przeliczeniu na suchą masę organu ilość azotu całkowitego, jak i białkowego, jest w całym okresie hodowli wielokrotnie wyższa w hypokotylu niż w korzeniu, czyli wprost przeciwnie aniżeli stwierdził Maróti w 6-dniowych siewkach fasoli.

Zależność, jaką stwierdziła Petschenizina (1951), między ilością azotu białkowego a przyrostem suchej masy, a Robinson (1952) między wzrostem na długość a ilością azotu białkowego, jak wynika również z przedstawionej pracy, istnieje, chociaż nie zawsze jest wprost proporcjonalna. Przyrost suchej masy, jak i wzrost na długość, zwiększał się proporcjonalnie w miarę upływu czasu, natomiast krzywa dla azotu białkowego w początkowym okresie obniżała się, po czym od 9 dnia hodowli następował jej wzrost.

Z zawartością białka były też związane różnice morfologiczne. Zarodki hodowane bez azotanu sodu, gdzie ilość azotu białkowego była przez cały czas hodowli niższa niż w zarodkach hodowanych na pożywce z azotanem sodu, osiągały po 13 dniach hodowli długość 82 mm, podczas gdy hodowane na pożywce z azotanem sodu 127 mm. Zarodki hodowane bez azotanu sodu wykazywały również zahamowanie tworzenia korzeni bocznych.

Reasumując osiągnięte wyniki, stwierdzamy w ciągu całego 13-dniowego okresu hodowli wielokrotnie wyższą zawartość azotu zarówno białkowego, jak i całkowitego w hypokotylu siewek niż w korzeniu. Związane jest to z większą masą i większym wzrostem na długość hypokotyli niż korzeni w całym okresie hodowli.

STRESZCZENIE

1. Przedstawione są dane o wartościach i rozprzestrzenieniu głównych składników azotowych zarodków łubinu zmiennego w kolejnych fazach wzrostu w 13-dniowym okresie hodowli.

2. Krzywa wzrostu zarodków na długość, jak i przyrost świeżej i suchej masy, zwiększają się proporcjonalnie do upływu czasu, podczas gdy ilość azotu białkowego, podobnie jak stwierdził McRary w nie izolowanych zarodkach łubinu, do dziewiątego dnia hodowli opada, po czym następuje jej wzrost.

3. Zarodki hodowane na pożywce bez azotanu sodu wykazują duże różnice morfologiczne, jak i biochemiczne w porównaniu z zarodkami hodowanymi na pożywce pełnej z azotanem sodu.

Zakład Fizjologii Roślin
Uniwersytetu w Poznaniu

(Wpłynęło dn. 3.6. 1960 r.)

SUMMARY

1. The data show the values and the distribution of chief nitrogenous constituents of lupinus embryos in different peirods of a thirteen days cultivation.

2. The longitudinal embryo growth, as well as the increase of fresh and dry weight, are proportional to time, while the protein nitrogen, similar to the data in non isolated lupinus embryos given by McRary, decreases up to the ninth day of cultivation, increasing, however after that period.

3. Embryos cultivated on medium without $NaNO_3$ differ morphologically and biochemically from those cultivated on medium with $NaNO_3$.

LITERATURA

Barbacki S., 1952, Łubin, PWRIL Warszawa.

Bonnet R., 1929, L'évolution de l'azote au cours de la gérmination. Bull. Soc. Chim. Biol. 2: 1025—1060.

Duhamet L., 1946, Recherches sur l'action de l'hétéroauxine et de la colchicine sur la croissance de racines isolées de *Lupinus albus,* Revue de Cytologie et de Cytophysiologie Végétales 8: 35—75.

Maróti M., 1957, Der Nitrogenstoffwechsel in der jungen Wurzel und im Spross I. Acta Bot. Acad. Scien. Hung. 3: 275—291.

McKie P., 1931, The nitrogen metabolism of the lupin seedling. Biochem. Jour. 25; 2182—2188.

McRary W., 1940, Nitrogen metabolism of the plant embryo, Bot. Gaz. 102: 89—96.

Nowacki E., 1958, Łubin zmienny — *Lupinus mutabilis* Sweet — morfologia i fizjologia gatunku, Roczn. Nauk Roln. 79: 173—185.

Petschenizina A., 1951. K woprosu o roli uglerodow w sintiezie biełkow rastienij, Inst. Fizjoł. Rast. 212—241.

Robinson E., Brown R., 1952, The development of the enzyme complement in the growing root cells, J. Exp. Bot. 3; 556.

Rogozińska J., 1958, Hamujący wpływ o-aminoazotoluenu na wzrost bezliścieniowych zarodków rzodkiewki hodowanych *in vitro*, Acta Soc. Bot. Pol. 27: 103—113.

Steward F. C., Wetmore R. H., Thompson J. F., Nitsch U. P., 1954 A quantitative paper chromatographic study of nitrogenous components of shoot tips, Amer. J. Bot. 41: 123—134.

ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIX — Nr 4
1960

Comparaison de l'incorporation de la méthionine-^{35}S et de la methionine-methyle-^{14}C au cours de la formation du phragmoplaste

M. J. OLSZEWSKA *

INTRODUCTION

Des recherches autoradiographiques précédentes nous ont montré que la méthionine-^{35}S s'incorpore intesément dans le cytoplasme des cellules en télophase, particulièrement dans le phragmoplaste (Olszewska 1960 b, c). L'action du β-mercaptoéthanol nous a permis de conclure que les protéines qui constituent les fibrilles du phragmoplaste sont liées par des ponts S-S (Olszewska 1960 d). Il serait donc possible que la méthionine s'incorpore dans le phragmoplaste après déméthylation, c'est-à-dire après avoir été transformée en homocystéine.

On sait que la plaque cellulaire se forme à partir de lipides neutres (Olszewska 1960 a); comme les groupements CH_3 de la méthionine participent à la synthése des acides gras (Wang et coll. 1951; O. Leary 1959), il nous a paru intéressant de comparer l'incorporation de la méthionine-méthyle-^{14}C à celle de la méthionine marquée au soufre.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont porté sur le méristème rediculaire d'*Allium cepa*, incubé, pendant 1 heure, dans une solution aqueuse contenant soit de la dl-méthionine-^{35}S (2,5 μC et 0,02 μM/ml) soit de la l-méthionine-méthyle-^{14}C (2,5 μC et 0,4 μM/ml).

Une partie du matériel a été fixée de façon à conserver les lipides, notamment dans le liquide de McManus (Pearse 1953), le restant a été fixée dans un mélange d'alcool absolu et d'acide acétique glacial (95:5), à —8°C.

---

* Boursière de la Fondation Rockefeller; adresse permanente: Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie végétales, Université de Łódź, Łódź, Pologne.

Les coupes (à la paraffine, d'épaisseur de 8μ) après fixation dans la solution de McManus, ont été lavées, pendant plusieurs heures, dans de l'eau courante, en vue d'éliminer le cobalt que cette solution renferme. Les coupes fixées à l'alcool acétique ont été soumises, durant 24 heures, à une extraction dans un mélange alcool absolu-éther (1 : 1).

La technique autoradiographique décrite par Ficq (1955) a été employée (émulsion Ilford G5 "in gel form"). Pour le matériel traité à la méthionine-^{35}S, les lames ont été développées après 1,5 jours d'exposition; le temps d'exposition pour le matériel incubé avec de la méthionine-méthyle-^{14}C était de 4 jours.

Nous avons également fait des essais autoradiographiques avec des racines fixées par la méthode de Baker (Pearse, 1953), ainsi qu'avec des racines dont les lipides avaient été extraits par la pyridine (matériel traité au Bouin). Dans les deux cas, bien que le lavage dans l'eau courante ait été prolongé, l'émulsion a, malheureusement, été fortement désensibilisée.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

L'examen des autoradiogrammes montre que, à la télophase, un grand nombre des traces dues aux électrons du ^{14}C dans les groupements méthyles de la méthionine se retrouvent aux environs de la plaque cellulaire

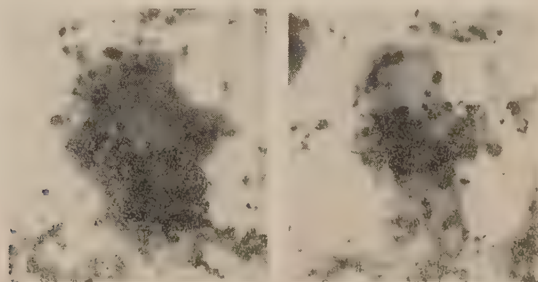


Fig. 1 Fig. 2

Fig. 1. Télophase dans le méristème radiculaire d'*Allium cepa*, fixé dans le mélange de McManus; incorporation de la l-méthionine méthyle-^{14}C: la plupart des traces sont rassemblées aux environs de la plaques cellulaire

Fig. 2. Télophase dans le méristème radiculaire d.*Allium cepa*, fixé dans le mélange de McManus; incorporation de la dl'méthionine-^{35}S: les traces sont dispersées dans le phragmoplaste

(fig. 1) si le matériel a été fixé de manière à conserver les lipides. Dans le même matériel, traité à la méthionine-^{35}S et fixé par la même méthode, les traces sont dispersées dans le phragmoplaste (fig. 2).

Nous avons effectué, dans les cellules en télophase, un comptage des traces émises par le ^{14}C et le ^{35}S, en envisageant séparément les traces localisées dans le phragmoplaste, dans la plaque cellulaire et dans le cytoplasme. Dans les coupes colorées par la méthode d'Unna, la plaque, qui ne contient pas d'ARN, est parfaitement reconnaissable du phragmoplaste riche en ARN.

Tableau 1

Incorporation de la 1-méthionine-méthyle-^{14}C et de la dl-méthionine-^{35}S dans les cellules en télophase

Précurseur	Fixateur	Nombre de cellules étudiées	Nombre de traces/cellule		
			plaque	phragmoplaste	cytoplasme
Méthionine méthyle-^{14}C	McManus	115	1,56	1,58	1,90
	alc. acét. extr. alc. éther	115	0,78	1,54	2,11
Méthionine-^{35}S	Mc. Manus	110	0,38	3,05	2,67
	alc. acét. extr. alc. éther	105	0,40	2,87	2,41

Les résultats du comptage des traces sont présentés dans le tableau 1.

Dans le matériel incubé avec de la méthionine-méthyle-^{14}C et où les lipides sont conservés, on note le même nombre de traces dans la plaque cellulaire que dans le phragmoplaste. L'extraction des lipides enlève la moitié des traces localisées aux environs de la plaque, sans modifier la radioactivité du phragmoplaste et celle du cytoplasme environnant.

Dans le cas de la méthionine-^{35}S, la plupart des traces se trouvent dans le phragmoplaste; mais, dans la plaque cellulaire, on ne retrouve que 15% des traces présentes dans le phragmoplaste. Le traitement par les solvants des lipides n'a pas d'influence sur la répartition de la radioactivité due à la présence du ^{35}S de la méthionine.

DISCUSSION

La limite de résolution, dans la technique autoradiographique employée, est de 1 μ. La largeur de la plaque atteint, dans sa partie lipidique, env. 1,5 μ. Bien qu'on se trouve à la limite des possibilités d'application

de la technique autoradiographique, il semble que nos résultats soient significatifs.

La présence du ^{35}S dans la plaque cellulaire pourrait être due soit aux erreurs inévitables de comptage, soit à une incorporation dans des protéines contenant des groupements-SH: la présence de telles protéines a été démontrée, dans la plaque cellulaire, par des réactions cytochimiques (Idelman 1958; Olszewska 1960a).

Les résultats obtenus à propos de l'incorporation de la méthionine-méthyle-^{14}C semblent confirmer notre hypothèse de départ: la méthionine incorporée au cours de la formation du phragmoplaste subirait une déméthylation; le groupement-SH de l'homocystéine ainsi formée, après oxydation (ce processus étant empêché par l'action du β-mercaptoéthanol), formerait les ponts S-S des protéines fibrillaires du phragmoplaste; au contraire, le groupement CH_3 s'incorporerait dans les lipides de la plaque cellulaire.

Dans cette plaque, la moitié des substances contenant du ^{14}C n'est pas extraite par l'alcool et l'éther. Il est donc possible, conformément à une hypothèse que nous avons émise précédemment (Olszewska 1960a) que, à la suite de transformations chimiques au niveau de la plaque, le ^{14}C soit incorporé dans les polysaccharides.

RÉSUMÉ

Nous avons comparé, par autoradiographie, l'incorporation de la l-méthionine-méthyle-^{14}C et de la dl-méthionine-^{35}S au cours de la formation du phragmoplaste et de la plaque cellulaire dans le méristème radiculaire d'*Allium* cepa.

Nous avons constaté que les traces des électrons du ^{14}C du groupe méthyle de la méthionine s'accumulent au niveau de la plaque cellulaire, tandis que celles dues au ^{35}S semblent être beaucoup plus dispersées. Le ^{14}C est vraisemblablement incorporé dans les lipides de la plaque cellulaire.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à M. le Professeur J. Brachet qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous aider de ses conseils. Nous adressons à Mme. Dr. A. Ficq nos vifs remerciements pour le temps qu'elle a consacré à discuter nos résultats.

Laboratoire de Morphologie animale
Université libre de Bruxelles

BIBLIOGRAPHIE

Ficq A., 1955, Arch. Biol. 66: 509.
Idelman S., 1958 C. R. Ac. Sci. 246: 3499.
O'Leary W. M., 1959, J. Bacteriol. 78: 709.
Olszewska M. J., 1960a, Acta Soc. Bot. Pol. 29: 249.
Olszewska J. M., 1960b, Arch. intern. bioch. 68: 412.
Olszewska J. M., 1960c, Protoplasma, sous presse.
Olszewska J. M., 1960d, Protoplasma, sous presse.
Pearse A. G. E., 1953, Histochemistry, London, J. N. Churchill Ltd.
Wang C. H., Cheldelin V. R., King T. E., 1951, J. Biol. Chem. 188: 759.

CHROŃMY PRZYRODĘ OJCZYSTĄ

DWUMIESIĘCZNIK

PODAJE WIADOMOŚCI O:

- PARKACH NARODOWYCH I REZERWATACH
- ROŚLINACH OCHRONNYCH
- ZWIERZĘTACH POŻYTECZNYCH I WYMIERAJĄCYCH
- POMNIKACH PRZYRODY TAKICH, JAK STARE DRZEWA OSOBLIWE SKAŁY, ŹRÓDŁA, GROTY itp.
- PIĘKNIE PRZYRODY RÓŻNYCH CZĘŚCI ŚWIATA



ZAMÓWIENIA NA PRENUMERATĘ PRZYJMUJĄ:
„RUCH", KRAKÓW, UL. WORCELLA 6 KONTO PKO NR 4-6-777.
ODDZIAŁY I DELEGATURY „RUCHU" ORAZ URZĘDY POCZTOWE W CAŁYM KRAJU.

CENA PRENUMERATY ROCZNEJ 30 ZŁOTYCH

WIADOMOŚCI BOTANICZNE

KWARTALNIK

O CHARAKTERZE INFORMACYJNO-SPRAWOZDAWCZYM

ZAMIESZCZA

ROZPRAWY O AKTUALNYCH ZAGADNIENIACH BOTANICZNYCH

INFORMUJE

O RUCHU NAUKOWYM I WYDAWNICZYM W KRAJU I ZAGRANICĄ

Tylko prenumerata zapewnia regularne otrzymywanie czasopisma
Cena prenumeraty rocznej 40 zł, półrocznej 20 zł

ZAMÓWIENIA I WPŁATY PRZYJMUJĄ:

PRZEDSIĘBIORSTWO UPOWSZECHNIANIA PRASY I KSIĄŻKI „RUCH"
KRAKÓW, UL. WORCELLA 6, KONTO PKO NR 4-6-777
PLACÓWKI „RUCHU" I URZĘDY POCZTOWE W CAŁYM KRAJU.

BIEŻĄCE NUMERY NABYWAĆ MOŻNA W KSIĘGARNIACH NAUKOWYCH „DOM KSIĄŻKI",
ORAZ WE WZORCOWNI WYDAWNICTW NAUKOWYCH PAN – OSSOLINEUM – PWN,
WARSZAWA, PAŁAC KULTURY I NAUKI.

TREŚĆ — SOMMAIRE

VOL. XIXX

REDAKCJA

zawiadamia

P.T. Czytelników

że już od dn. 15.XI.60 r. zamówienia na prenumeratę na rok 1961 przyjmują: Centrala Kolportażu „Ruch", Warszawa, Srebrna 12, PKO nr 1-6-100.020 oraz w całym kraju urzędy pocztowe, listonosze i delegatury „Ruchu". Tylko prenumerata zapewnia regularne otrzymywanie czasopisma. Cena rocznego abonamentu wynosi zł 140,—, półrocznie zł 70,—.

Cena zł 35,—

Warunki prenumeraty czasopisma

„ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE“ — Kwartalnik

Cena w prenumeracie zł 140,— rocznie
zł 70,— półrocznie

Zamówienia i wpłaty przyjmują:

1. Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch", Warszawa, ul. Srebrna 12, konto PKO Nr 1-6-100-020;

2. Urzędy pocztowe.

Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę 40% drożej. Zamówienia dla zagranicy przyjmuje Przedsiębiorstwo Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch", Warszawa, ul. Wilcza 46, konto PKO Nr 1-6-100-024.

Bieżące numery do nabycia w księgarniach naukowych „Domu Książki" oraz w Ośrodku Rozpowszechniania Wydawnictw Naukowych Polskiej Akademii Nauk — Wzorcownia Wydawnictw Naukowych PAN — Ossolineum — PWN, Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (wysoki parter).